BAND 29, HEFT 1 MÄRZ 1957

PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

Unter Mitwirkung von

Prof. Dr. E. Baldacci, Mailand / Prof. Dr. H. Braun, Bonn / Prof. Dr. W. B. Brierley, Keswick-Cumberland / Prof. Dr. T. Hemmi, Kyoto / Oberreg.-Rat i. R. Dr. E. Köhler, Braunschweig / Prof. Dr. K. O. Müller, Canberra / Prof. Dr. H. M. Quanjer, Wageningen Prof. Dr. Tr. Savulescu, Bukarest / Prof. Dr. E. C. Stakman, St. Paul

herausgegeben von den Professoren

E. Gäumann Zürich

M. Klinkowski Aschersleben

H. Richter Berlin-Dahlem

Mit 46 Abbildungen

1957

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

Phytopath. Z. Bd. 29 **Heft 1** *S. 1—120 Berlin 1957*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE 3 APR 1957

INHALT

Abhandlungen

GÄUMANN, E., Über Fusarinsäure als Welketoxin. Mit 17 Abb. 1

ROHRINGER, R., Untersuchungen zur Biochemie von Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici* ERIKSS. und HENN., ph. R. 126 A 45

ZOGG, H., Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. II. Vitamine B_1 und Biotin; *Calonectria graminicola*. Mit 6 Abb. 65

NOVÁKOVÁ, J., A new method of isolation of Blackleg-pathogens from diseased plants 72

GÜRTÜRK, S., ÖZKAN, M. und BASKAYA, H., Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Mischinfektionen von *Cucumber* Virus 1 und *Beta* Virus 4 am Spinat in der Türkei. Mit 2 Abb. 75

HEIN, A., Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern. II. Das Luzernemosaik- und das *Lamium*-Gelbmosaikvirus. Mit 21 Abb. 79

Besprechungen 117

Manuskripte: In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

Herausgeber: Prof. Dr. E. GÄUMANN, Zürich 6, Universitätsstraße 2, Prof. Dr. M. KLINKOWSKI, Aschersleben, Ermslebener Str. 52, und Prof. Dr. H. RICHTER, Berlin-Dahlem, Königin-Luise-Str. 19.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. RICHTER, Berlin-Dahlem. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. RICHTER vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

Honorierung: Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die ersten drei Bogen honoriert; Dissertationen und Buchbesprechungen sind honorarfrei.

Sonderdrucke: Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

Erscheinungsweise: Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 10—12 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

Bezugsbedingungen: Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM **Einzelpreis 26,40 DM**

Aus dem Institut für spezielle Botanik der Eidg. Technischen Hochschule in Zürich

Über Fusarinsäure als Welketoxin*)

Von

ERNST GÄUMANN

Mit 17 Abbildungen

Inhalt: Einleitung. — 1. Kapitel. Der Chemismus der Fusarinsäure. — 2. Kapitel. Ernährungsphysiologische Untersuchungen über die Fusarinsäurebildner. — 3. Kapitel. Das Bildungs- und Wirkungsspektrum der Fusarinsäure. — 4. Kapitel. Der Nachweis der Fusarinsäure in vivo. — 5. Kapitel. Die grobsinnlichen Symptome der Fusarinsäureschädigung bei Tomatensprossen. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

Einleitung

Die Frage, ob die Erreger von Welkekrankheiten neben ihren enzymatischen Schädigungsmöglichkeiten auch mit mehr oder weniger spezifischen Toxinen auf die Wirtspflanzen einwirken, ist seit Jahren umstritten. Während des zweiten Weltkrieges wurde beim *Fusarium lycopersici* Sacc. ein erstes Welketoxin isoliert und chemisch definiert, nämlich das Lycomarasmin, ein Dipeptid (CLAUSON-KAAS, PLATTNER und GÄUMANN, 1944).

Über dieses Toxin bestehen in der angelsächsischen Literatur einige Irrtümer; so wird angegeben, es sei ein Altersprodukt des *Fusarium lycopersici* und trete erst nach zwei Monaten in den Kulturfiltraten auf. Dies beruht auf einem Mißverständnis des deutschen Textes. Wir pflegen unsere Kulturen für die Gewinnung von Lycomarasmin nach sechs bis acht Wochen zu ernten; dies wurde von einem Kollegen dahin verstanden, daß das Lycomarasmin erst nach sechs bis acht Wochen gebildet werde, und dann schrieb es einer dem andern nach. In Wirklichkeit kann das Lycomarasmin schon am siebenten Tage im Myzel des *Fusarium lycopersici* nachgewiesen werden; im Kulturfiltrat beträgt der Lycomarasmingehalt in jenem Zeitpunkt etwa 10 mg/l, und er steigt hernach bis zum 44. Tage auf etwa 200 bis 300 mg/l an; dann ernten wir.

*) Die vorliegende Arbeit wurde durch den schweizerischen Nationalfonds zur Förderung wissenschaftlicher Forschung unterstützt; ich möchte den zuständigen Behörden auch hier meinen Dank wiederholen.

Schon frühzeitig stand jedoch fest, daß in den jungen Kulturfiltraten des *Fusarium lycopersici* neben dem Lycomarasmin noch mindestens ein zweites Toxin vorhanden sein muß; denn die betreffenden Kulturfiltrate hemmen das Wachstum gewisser Bakterien, so von *Bacillus mesentericus, Staphylococcus pyogenes* und *Pseudomonas aeruginosa,* wozu das reine Lycomarasmin nicht imstande ist. Aus diesem Grunde haben wir nie geschrieben, das Lycomarasmin sei d a s Welketoxin des *Fusarium lycopersici,* sondern e i n Welketoxin desselben.

Es mußte deshalb ein Weg gefunden werden, dieses zweite Toxin (eben, wie sich später herausstellte, die F u s a r i n s ä u r e) gegenüber dem Lycomarasmin zu differenzieren. Der Test mit den genannten Bakterien war hierfür, weil zu diffus, nicht geeignet. Auch der Welketest mit jungen Tomatensprossen ließ sich nicht verwenden, weil beide Toxine auf den Tomatenblättern ähnliche Schädigungen auslösen.

Erst sieben Jahre später konnten wir unsere Arbeit fortsetzen, als ein Testobjekt gefunden war, das einerseits genügend fein auf Fusarinsäure ansprach und anderseits für Lycomarasmin unempfindlich war; als ein solcher Differentialtest erwies sich der Keimungstest mit den Brandsporen von *Ustilago zeae,* der von KERN entwickelt und von KOBEL (1951) und KERN (1952) näher beschrieben worden ist. Fusarinsäure hemmt nämlich die Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae* verhältnismäßig stark (die LD_{50} liegt in der Dimension von 10^{-4} molar); anderseits ist reines Lycomarasmin für die Sporen des Maisbrandes ungiftig.

Wenn somit ein Kulturfiltrat nebeneinander Lycomarasmin und Fusarinsäure enthält, so kann sein Gehalt an F u s a r i n s ä u r e ceteris paribus mit Hilfe seiner „*Ustilago*-Aktivität", d. h. seiner hemmenden Wirkung auf die Keimung der Brandsporen der *Ustilago zeae,* ermittelt werden. Auf dieser Grundlage wurde in der Folgezeit die Fusarinsäure als ein wichtiges pathogenes Agens mehrerer Erreger von Welkekrankheiten erkannt (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952).

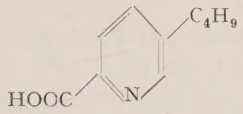
Die vorliegende Arbeit bespricht den Chemismus, die Bildungsweise, das Bildungs- und Wirkungsspektrum und einige Schädigungssymptome der Fusarinsäure. In einer späteren Arbeit werden wir die Wirkungsmechanismen der Fusarinsäure darzustellen versuchen.

1. KAPITEL

Der Chemismus der Fusarinsäure

Fusarinsäure wurde zuerst von YABUTA, KAMBE und HAYASHI (1934) als Stoffwechselprodukt eines bedeutungslosen Pilzes isoliert, nämlich des *Fusarium heterosporum* Nees, das auf der ganzen Erde saprophytisch oder als unspezifischer Parasit auf Gräsern, Äpfeln, Mutterkornsklerotien usw. lebt. 18 Jahre später wurde sie von GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) als wichtiges Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc., des *Fusarium vasinfectum* Atk. und der *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. erkannt.

Chemisch ist sie eine Pyridincarbonsäure, nämlich 5 n-Butyl-Picolinsäure:



mit der Bruttoformel $C_{10}H_{13}O_2N$ und dem Molekulargewicht 179 (YABUTA, KAMBE und HAYASHI, 1934). Diese Konstitutionsformel ist seither unbestritten geblieben.

Gewisse Abweichungen ergaben sich nur hinsichtlich des Schmelzpunktes der Verbindung. YABUTA, KAMBE und HAYASHI fanden bei ihrem Präparat einen Schmelzpunkt von 107 bis 109 °. Auch STOLL (1954) stellte aus Kulturfiltraten der *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. eine Fusarinsäure mit einem Schmelzpunkt von 107 bis 108 ° her. Die Fusarinsäurepräparate, die vor ihm GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL (1952) aus Kulturfiltraten des *Fusarium lycopersici* Sacc., des *Fusarium vasinfectum* Atk. und der *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. gewonnen hatten, besaßen jedoch sämtlich einen etwas tieferen Schmelzpunkt, nämlich 103 bis 105 ° (PLATTNER, KELLER und BOLLER, 1954).

Ähnliche Divergenzen hinsichtlich der Schmelzpunkte wie zwischen den biogenen Fusarinsäuren bestehen aber auch zwischen den synthetischen Präparaten von verschiedener Provenienz. PLATTNER, KELLER und BOLLER (1954) synthetisierten, ausgehend von Aldehydkollidin, über neun Stufen eine Fusarinsäure mit dem Schmelzpunkt von 103 °. NAKASHIMA (1955) erhielt bei einer im wesentlichen gleichen Synthesemethode wie PLATTNER, KELLER und BOLLER ein bei 107 bis 108 ° schmelzendes Produkt. HARDEGGER und NIKLES (1956) synthetisierten dagegen, ausgehend von β-Picolin, in fünf Stufen eine Fusarinsäure mit einem Schmelzpunkt von 98 bis 100 °.

Die Ursache dieser Divergenzen liegt (jedenfalls bei den biogenen Fusarinsäuren) darin, daß sie in manchen Fällen neben der echten Fusarinsäure noch Spuren der schwer von ihr zu trennenden Dehydrofusarinsäure enthalten, die einen etwas höheren Schmelzpunkt besitzt. Reine Fusarinsäure schmilzt nämlich bei 98 bis 100 °, reine Dehydrofusarinsäure dagegen bei 118 bis 120 °. Gemische der beiden Säuren zeigen je nach ihrem Gehalt an der einen oder anderen Komponente Schmelzpunkte, die zwischen denen der reinen Verbindungen liegen (STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956).

Das Bestehen der Dehydrofusarinsäure neben der echten Fusarinsäure wurde von STOLL (1954) entdeckt. Bei gewissen Fusarinsäure produzierenden Pilzen, so bei der *Gibberella Fujikuroi,* verursachen nämlich die Kulturfiltrate an den Blättern junger Tomatensprosse eine Chlorose der Interkostalfelder, die in dieser Form bei den Welkeversuchen mit reiner Fusarinsäure nie auftritt. Extraktions- und Reinigungsversuche der Kulturfiltrate führten zur Reindarstellung der Dehydrofusarinsäure (STOLL, 1954), einer 5 n-Butylen-Picolinsäure mit der Bruttoformel $C_{10}H_{11}O_2N$ (also um H_2 ärmer als die echte Fusarinsäure), dem Molekulargewicht 177 und einem Schmelzpunkt von 118 bis 120 °. Hydrierung der Dehydrofusa-

rinsäure mit Platin und Eisessig führte wieder zur Fusarinsäure (STOLL und RENZ, 1957).

Merkwürdigerweise tritt in den Kulturfiltraten sowohl des *Fusarium lycopersici* (STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956) als der *Gibberella Fujikuroi* (STOLL und RENZ, 1957) die ungesättigte Dehydrofusarinsäure zeitlich n a c h der gesättigten Fusarinsäure auf (z. B. in unseren Abb. 8 und 10). Ob dabei die Dehydrofusarinsäure, unabhängig von der Synthese der Fusarinsäure, de novo gebildet wird oder ob sie nur als Stufe einer Fusarinsäuresynthese, die nicht zu Ende geführt wurde, in den Kulturfiltraten zurückbleibt, ist noch unbekannt.

Für die t e c h n i s c h e G e w i n n u n g der Fusarinsäure aus pilzlichen Kulturfiltraten werden diese auf ein pH von 4,0 eingestellt und erschöpfend mit Essigester extrahiert. Der Essigesterauszug wird zur Trockne eingeengt, der Eindampfrückstand mit wenig Wasser gelöst und mit Bikarbonat alkalisch gemacht (pH etwa 8 bis 8,5). Die wässerig-alkalische Lösung wird zur Entfernung von Verunreinigungen zweimal mit etwa dem halben Volumen Äther ausgeschüttelt, dann wieder angesäuert und zur Extraktion der Säuren mit Äther in einem Flüssigkeitsextraktionsapparat erschöpfend ausgezogen. Der Eindampfrückstand der Ätherfraktion enthält Säuren, die sich bereits kristallisieren lassen. In den meisten Fällen liegt ein Gemisch von Fusarinsäure mit Dehydrofusarinsäure vor, das durch Craig-Verteilung zwischen Wasser und Essigester getrennt werden kann (STOLL und RENZ, 1957).

Ein Verfahren zur p a p i e r c h r o m a t o g r a p h i s c h e n B e s t i m m u n g geringer Mengen von Fusarinsäure wurde von ZÄHNER (1954, 1955) ausgearbeitet.

2. KAPITEL

Ernährungsphysiologische Untersuchungen über die Fusarinsäurebildner

Stoffwechselphysiologische Untersuchungen über die hier in Frage kommenden Welkekrankheitserreger liegen aus früheren Jahren u. a. von SHERWOOD (1923), WHITE (1927), AHMET (1933), LUZ (1934), und aus neuerer Zeit insbesondere von GOTTLIEB (1944), STOLL (1954), FLÜCK und RICHLE (1955) und SANWAL (1956) vor. Sie lassen sich, weil zu verschiedenen Zeiten mit verschiedenen Stämmen und unter unterschiedlichen Voraussetzungen durchgeführt, nur in beschränktem Ausmaß miteinander vergleichen.

Wir gliedern das vorliegende Kapitel in drei Abschnitte:

§ 1. Der Stoffwechsel der Fusarinsäurebildner.
§ 2. Der zeitliche Ablauf der Fusarinsäureproduktion.
§ 3. Besondere Voraussetzungen für die Bildung von Fusarinsäure.

§ 1. D e r S t o f f w e c h s e l d e r F u s a r i n s ä u r e b i l d n e r

Da die Fusarinsäuremolekel nur aus Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Wasserstoff aufgebaut ist, müssen bei ihrer Biosynthese der Kohlenstoff-

und der Stickstoffhaushalt des betreffenden Erregers eine entscheidende Rolle spielen.

a) Die Kohlenstoffquellen

Was zunächst den Kohlenhydratstoffwechsel in vitro betrifft, so wird die dargebotene Glukose durch das *Fusarium lycopersici* in gewissen Fällen (Abb. 1, Kurve gl) innerhalb rund 18 Tagen, in andern Fällen (SANWAL, 1956) aber auch erst innerhalb 36 Tagen, durch die *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. dagegen sogar innerhalb elf Tagen aufgebraucht (STOLL, 1954).

Zwischen dem Kohlenhydratstoffwechsel und der Produktion von Fusarinsäure ließ sich keine unmittelbare Beziehung nachweisen; dagegen vermag der in der Nährlösung zur Verfügung stehende Kohlenstoffvorrat in seinem Verhältnis zum Stickstoff die Fusarinsäurebildung zu beeinflussen; so produziert das *Fusarium lycopersici* beim Verhältnis 2,5 % C : 0,5 % N in einer Richard$_5$-Nährlösung erheblich mehr Fusarinsäure als bei den Verhältnissen 2,5 % C : 1 % N oder 5 % C : 0,5 % N (SANWAL, 1956). Das optimale C : N-Verhältnis liegt somit bei der Relation 5 : 1; oberhalb und unterhalb dieses Wertes fällt die Fusarinsäureproduktion ab.

Bei Standkultur in Erlenmeyerkolben, also bei verhältnismäßig schlechter Durchlüftung der Nährlösung, wandelt das *Fusarium lycopersici* einen Teil der dargebotenen Glukose in Äthylalkohol um (Abb. 1, Kurve a), der nun seinerseits als Kohlenstoffquelle dient und etwa am 37. Tag verschwunden ist (LUZ, 1934).

Wahrscheinlich entsteht Äthylalkohol nicht nur in vitro, sondern auch unter den ernährungsphysiologischen Verhältnissen im Innern der Tomatensprosse, wobei er dann mutmaßlicherweise die Erkrankungsdisposition dieser Sprosse erheblich verändert. Werden nämlich Sprosse der widerstandsfähigen Tomatensorte Jefferson in Konidien- bzw. Sproßzellsuspensionen des *Fusarium lycopersici* gestellt, die 1,0, 0,5 bzw. 0,2 % Äthanol enthalten, so erkranken sie innerhalb 12 bis 15 Tagen in charakteristischer Weise, während die Kontrollen und die mit analogen Konzentrationen von Methanol, Isopropyl- und n-Butyl-Alkohol behandelten Parallelen befallsfrei bleiben (SCHEFFER und WALKER, 1954). Es handelt sich somit um eine spezifische Giftwirkung des Äthanols, wobei schon eine Äthanolkonzentration von 0,2 % genügt, um die Reaktionslage der betreffenden Tomatensprosse von widerstandsfähig nach anfällig hin zu verschieben.

Der Schwellenwert, bei welchem der toxische Effekt des Äthanols einsetzt, liegt zweifelsohne weit unterhalb der obengenannten Konzentration von 0,2 %, vielleicht um eine Zehnerpotenz tiefer, also bei etwa 0,02 %. Eine derartige Konzentration vermag aber das *Fusarium lycopersici* wahrscheinlich auch in vivo, im Innern der Gefäße, zu schaffen. In vitro läßt es ja die Äthanolkonzentration im Falle der Versuchsanordnung der Abbildung 1 bis auf 2,1 % ansteigen; wenn es also in vivo nur 1 % der in-vitro-Leistung vollbringt, so wird wahrscheinlich in den Wirtsgeweben die Wirkungsschwelle für Äthanol bereits überschritten.

Es ist also durchaus denkbar, daß das Äthanol (neben dem Äthylen; DIMOND und WAGGONER, 1953) in der Pathogenese der Tomatenwelke eine Rolle spielt; nur wirkt es, im Gegensatz zum Äthylen, nicht unmittelbar als selbständiges Toxin auf die Wirtsgewebe ein, sondern nur als Begleitstoff, der andern pathogenen Stoffen den Weg bereitet und entsprechende Dispositionen schafft.

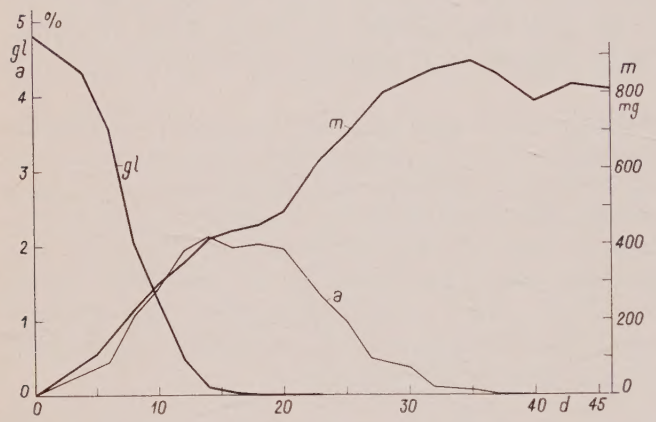


Abb. 1. Myzelwachstum, Zuckerverbrauch und Alkoholbildung des *Fusarium lycopersici* in einer modifizierten RICHARDschen Nährlösung. *m* Myzeltrockengewicht in mg. *gl* Gehalt des Kulturfiltrates an Glukose, *a* an Aethylalkohol, beide in % der Nährlösung. Abszisse: Tage nach der Beimpfung der Kulturen (Nach LUZ, 1934)

Statt aus Glukose und anderen Zuckern vermag das *Fusarium lycopersici* den Kohlenstoff auch aus gewissen Aminosäuren, so aus Asparaginsäure, Glutaminsäure und Glykokoll, zu gewinnen, die dann gegebenenfalls als alleinige Kohlenstoffquelle dienen (GOTTLIEB, 1944; SANWAL, 1956). Bei dieser alleinigen Ernährung mit Aminosäuren als C- und als N-Quelle vermag jedoch der Pilz zum Teil nur vegetativ zu wachsen, ohne seinen Stoffwechsel voll zu entfalten; so bildet er keine wesentlichen Mengen Fusarinsäure, wenn ihm Asparaginsäure bzw. Glutaminsäure als alleinige C- und N-Quelle geboten werden, wohl aber mit Glykokoll als alleiniger C- und N-Quelle (SANWAL, 1956).

Hingegen dürfte die Ernährung des Erregers aus Mineralsalzen und (als Kohlenstoff- und Stickstoffquelle) aus Asparagin bei gewissen anderen Welkekrankheiten bedeutsam sein; so ließen sich in den Gefäßen sowohl von welkeanfälligen als welkewiderstandsfähigen Lupinen keine Zucker nachweisen, wohl aber regelmäßig Asparagin in der Konzentration von 0,02 % und in einem Falle wahrscheinlich Glutaminsäure. In den Pflanzen, die mit *Fusarium oxysporum lupini* Sn. et H. infiziert waren, lag der Asparaginspiegel deutlich tiefer; also steht zu vermuten, daß das Asparagin durch den Pilz aufgebraucht worden ist (ZEEVAART, 1955).

b) Die Stickstoffquellen

Den Welkeerregern stehen im Innern des Wirtes sowohl anorganische als organische Stickstoffquellen zur Verfügung.

Wird ihnen bei Kultur in vitro der Stickstoff in anorganischer Form als Ammonnitrat verabreicht, so verbrauchen unter den geprüften

pH-Bedingungen sowohl das *Fusarium lycopersici* (Luz, 1934; Sanwal, 1956) als die *Gibberella Fujikuroi* (Stoll, 1954) in einer ersten, etwa zwei bis drei Wochen dauernden Wachstumsperiode vorwiegend den Nitrat-N (Abb. 2), später auch den Ammon-N. Eine unmittelbare Beziehung zwischen dem NO_3-Konsum und der Fusarinsäureproduktion (z. B. unsere Abb. 2 und 8) läßt sich jedoch nicht erkennen.

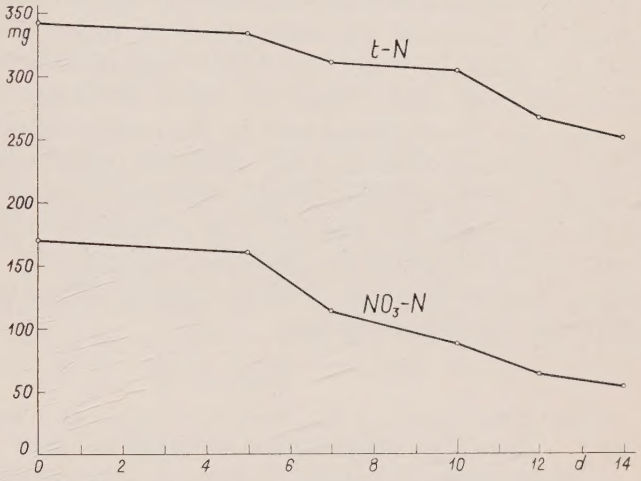


Abb. 2. Der Verlauf der Stickstoffaufnahme durch das *Fusarium lycopersici* Sacc. in einer Kulturlösung, die den N in Form von Ammonnitrat enthält. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: Gehalt der Kulturflüssigkeit an Gesamtstickstoff (t—N) bzw. an Nitratstickstoff (NO_3—N) (Nach Luz, 1934)

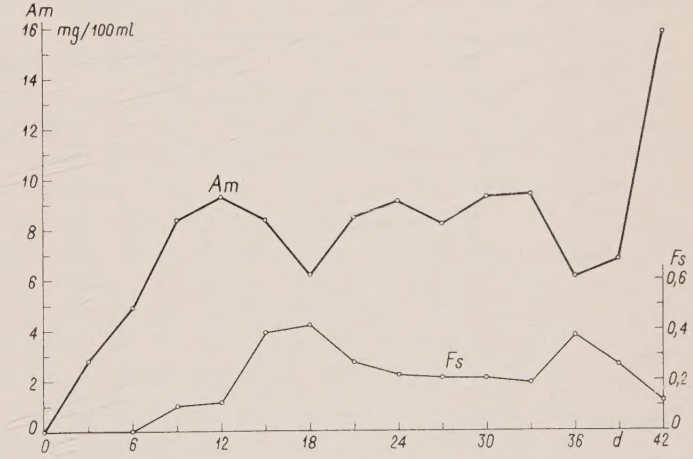


Abb. 3. Der Gehalt des Kulturfiltrates des *Fusarium lycopersici* an Aminostickstoff (Kurve *Am*) und an Fusarinsäurestickstoff (Kurve *Fs*) in einer Richard$_5$-Nährlösung, die den N als Ammonnitrat enthält. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: N-Gehalt in mg je 100 ml Kulturfiltrat. Die Kurve für den Fusarinsäure-N ist zehnfach überhöht (Nach Sanwal, 1956)

Diese Bevorzugung des Nitratstickstoffes erklärt vielleicht eine Beobachtung von Clayton (1923), wonach der unterschiedliche Krankheitsbefall der bei verschiedenen Bodenfeuchtigkeiten gezogenen Tomatenpflanzen mit einem unterschiedlichen Nitratgehalt ihrer Gewebe einhergeht; bei der Bodenfeuchtigkeit von rund 24 %, bei der sämtliche Versuchspflanzen erkrankten, enthielten nämlich die basalen Partien der Tomatensprosse sehr reichlich Nitratstickstoff, während in ihnen bei einer Bodenfeuchtigkeit von rund 14 %,

bei der kein Krankheitsbefall erfolgte, nur Spuren von Nitratstickstoff nachzuweisen waren. Jedenfalls würde es sich lohnen, diese Beobachtungen von CLAYTON nachzuprüfen.

An organischen Stickstoffquellen wurden bis jetzt vor allem Aminosäuren geprüft. Bei Kultur auf einer Richard$_5$-Nährlösung (die ja den N in Form von Ammonnitrat enthält) verläuft nämlich beim *Fusarium lycopersici* der Gehalt der Kulturflüssigkeit an Amino-N und an Fusarinsäure gegensinnig (SANWAL, 1956). In Abb. 3 erreicht der Amino-N-Gehalt des Kulturfiltrates nach zwölf Tagen ein erstes Maximum. Nach diesem Zeitpunkt steigt der Fusarinsäuregehalt des Kulturfiltrates steil an, wobei gleichzeitig der Amino-N-Gehalt sinkt. Aus noch unbekannten Gründen sinkt dann wieder der Fusarinsäurespiegel, während derjenige des Amino-N ansteigt. Zwischen dem 33. und 36. Tage wiederholt sich der Vorgang: Der Amino-N-Gehalt sinkt und der Fusarinsäurespiegel steigt. Nach dem 36. Tage erfährt der Amino-N-Gehalt, wohl im Zusammenhang mit dem Überwiegen der Autolyse, eine Übersteigerung.

Tabelle 1

Der Aminosäuregehalt des Kulturfiltrates und des wässerigen Myzelextraktes des *Fusarium lycopersici*

Der Stickstoff wurde in der Nährlösung als Ammonnitrat dargeboten.
0 Nicht nachweisbar. 1 Spuren. 2 Deutliche Mengen. 3 Reichlich vorhanden.
(Nach FLÜCK und RICHLE, 1955)

	Alter der Kultur in Tagen							
	7	18	24	34	7	18	24	34
	Kulturfiltrat				Wässeriger Myzelextrakt			
Aminosäuren:								
Asparagin	1	1	1	1	1	1	1	1
Asparaginsäure	3	3	3	3	3	3	3	3
Glutaminsäure	3	3	3	3	3	3	3	3
Serin	1	1	1	1	1	1	1	1
Glykokoll	1	1	1	1	2	2	2	2
Alanin	1	2	3	1	3	2	3	2
Citrullin	0	1	2	0	2	1	2	0
Threonin	0	0	0	0	2	2	2	2
Valin	0	0	0	0	1	1	1	1
Methionin	0	0	0	0	1	1	1	1
Leucin	0	0	0	0	1	1	1	1
Prolin	0	0	0	0	1	1	1	1
Phenyl-Alanin	0	0	0	0	0	0	0	0

Um diese Beziehungen zwischen dem Aminosäure-Stoffwechsel des Erregers und dem Fusarinsäuregehalt des Kulturfiltrates qualitativ abzu-

klären, analysierten Flück und Richle (1955) das Kulturfiltrat und den wässerigen Myzelextrakt des *Fusarium lycopersici* auf die einzelnen Aminosäuren hin (Tabelle 1). Im Filtrat von 18 und 24 Tage alten Kulturen konnten sieben Aminosäuren identifiziert werden; im Filtrat von 7 und von 34 Tage alten Kulturen fehlte dagegen das Citrullin. Im wässerigen Myzelextrakt wurden sogar zwölf Aminosäuren identifiziert, wobei aber im 34tägigen Myzel wiederum das Citrullin fehlte. Da die Schwankungen im mengenmäßigen Auftreten des Citrullins und des Alanins im Kulturfiltrat denjenigen der Fusarinsäuremenge entgegengesetzt verlaufen, so wäre es möglich, an eine Verwendung dieser beiden Aminosäuren bei der Biosynthese der Fusarinsäure zu denken.

Für das Alanin (Citrullin wurde bis jetzt noch nicht geprüft) trifft jedoch diese Vermutung nach unveröffentlichten Beobachtungen von Marianne Pavoni nicht zu; erhält nämlich das *Fusarium lycopersici* einen Teil des N in Form von Alanin (statt nur als Ammonnitrat) dargeboten, so steigt zwar seine Myzelproduktion auf rund das Doppelte an; aber die Fusarinsäureaktivität des Kulturfiltrates ist gleich null; die durch das Alanin gelieferten Bausteine werden somit (zum mindesten unter den geprüften Bedingungen) vom *Fusarium lycopersici* an anderer Stelle verwendet als für die Fusarinsäuresynthese.

c) Der Verlauf des Myzelgewichtes

Das Myzelgewicht der Kulturen nimmt sowohl beim *Fusarium lycopersici* als bei der *Gibberella Fujikuroi* während der ersten drei bis fünf Wochen stetig zu (z. B. Abb. 1, Kurve m) und wird somit durch die soeben besprochenen Umstellungen in der Kohlenstoff- und Stickstoff-Versorgung nicht unmittelbar beeinflußt. Hernach überwiegt die Autolyse über den Zuwachs; im Falle der Abb. 1 beträgt der Gewichtsverlust der Myzelien nur etwa 8 %, im Falle der Abb. 6 rund 23 %, bei anderen Kulturen des *Fusarium lycopersici* innerhalb der gleichen Zeit rund 40 % (Sanwal, 1956). Ähnliche Schwankungen bestehen auch bei der *Gibberella Fujikuroi* (z. B. Abb. 9).

Dieses Überwiegen der Autolyse über den Zuwachs kommt auch im Gehalt des Myzels an Aschenbestandteilen zum Ausdruck; er beträgt beim *Fusarium lycopersici* anfänglich rund 8 % des Trockengewichtes, geht dann allmählich auf 7 bis 7,5 % zurück und sinkt nach dem 14. Tage innerhalb 48 Stunden unvermittelt auf rund 1,8 % (Abb. 4). An diesem Abfall sind vor allem das Kali und die Phosphorsäure beteiligt, nimmt doch der Kaligehalt des Myzels innerhalb der kritischen zwei Tage von 2,6 auf 0,5 % und der Phosphorsäuregehalt von 4,0 auf 1,2 % ab (Luz, 1934).

Zweifelsohne setzt bei sämtlichen Pilzkulturen die Autolyse einzelner Zellen schon unmittelbar nach Beginn des Wachstums ein. Im Falle des *Fusarium lycopersici* muß jedoch der Zerfall der Hyphen ungefähr am 14. Tage unvermittelt ein katastrophales Ausmaß erreichen, so daß makrochemisch faßbare Mengen von wichtigen Aschenbestandteilen aus dem Zellinnern in die Nährlösung zurückwandern. Plasmolyseversuche zeigten denn auch, daß schon nach einer Kulturdauer von acht bis zehn Tagen manche

Pilzzellen geschrumpft und nicht mehr plasmolysierbar sind; nach zweiwöchentlicher Kultur nimmt dieses Absterben der Zellen derart überhand, daß es sich auch makroskopisch am Aussehen der Pilzdecken erkennen läßt (Luz, 1934).

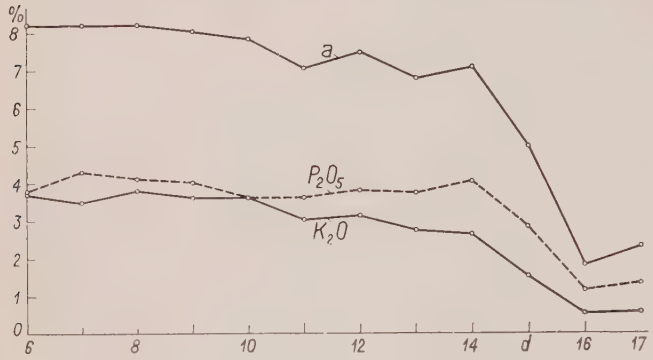


Abb. 4. Der Gehalt der Myzelien des *Fusarium lycopersici* an Gesamtasche *a*, an Kali K_2O und an Phosphorsäure P_2O_5, alle bezogen auf das Myzeltrockengewicht. Abszisse: Tage nach der Beimpfung der Kulturen (Nach Luz, 1934)

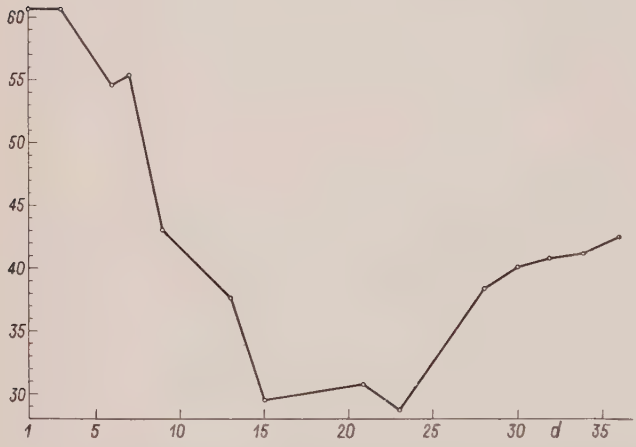


Abb. 5. Der Verlauf des Nitratgehaltes der Kulturflüssigkeit bei der *Gibberella Fujikuroi*. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: Relativer Nitratgehalt der Kulturflüssigkeit (Nach Stoll, 1954)

Bei der *Gibberella Fujikuroi* sind diese Vorgänge noch nicht im einzelnen verfolgt worden. Doch dürfen wir vermuten, daß sie dort in ähnlicher Weise abrollen; denn in Abb. 5 steigt der Nitratgehalt des Kulturfiltrates nach ungefähr dreiwöchentlicher Kulturdauer wieder an, und zwar im Zeitpunkte, da das Myzelgewicht wegen des Überwiegens der Autolyse zu sinken beginnt. Diese in der Kulturlösung neu auftretenden Nitrate sind entweder als solche in den Pilzzellen eingelagert gewesen oder bei der Autolyse von Stickstoffverbindungen als letzte Abbaustufe neu entstanden (Stoll, 1954).

§ 2. Der zeitliche Ablauf der Fusarinsäurebildung in vitro

Die Wege, die von den verschiedenen Fusarinsäurebildnern bei der Biosynthese der Fusarinsäure eingeschlagen werden, sind noch nicht bekannt; wir wissen deshalb noch nicht, welche der im ersten Kapitel angedeuteten Aufbaustufen der laboratoriumsmäßigen Fusarinsäuresynthese von den betreffenden

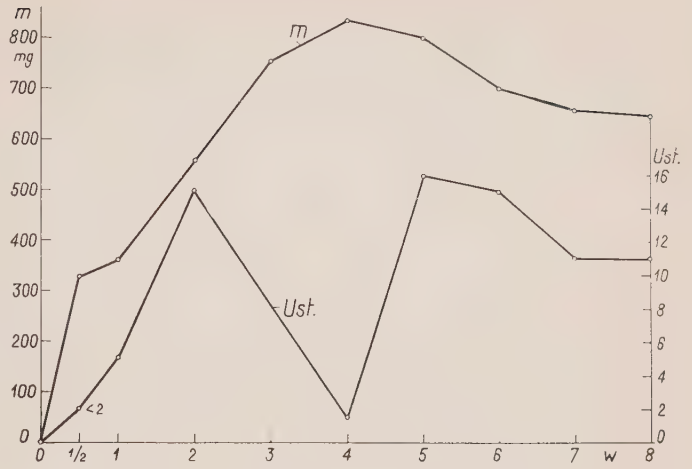


Abb. 6. Der zeitliche Ablauf des Myzelwachstums und der *Ustilago*-Aktivität des *Fusarium lycopersici* bei Kultur auf einer Richard$_5$-Nährlösung. Abszisse: Kulturdauer in Wochen. Ordinate: Kurve *m* durchschnittliches Myzeltrockengewicht in mg je Kolben; Kurve *Ust. Ustilago*-Aktivität des Kulturfiltrates (Nach Kern, 1952)

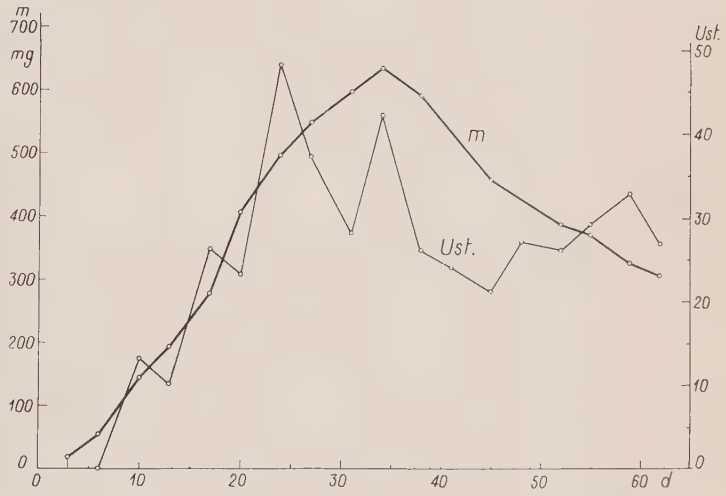


Abb. 7 Der zeitliche Ablauf des Myzelwachstums und der *Ustilago*-Aktivität des *Fusarium lycopersici* bei Kultur in einer Richard$_5$-Nährlösung. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: Kurve *m* durchschnittliches Myzeltrockengewicht in mg je Kolben; Kurve Ust. *Ustilago*-Aktivität d. Kulturfiltrates. Die beiden Kurven verlaufen gegenüber dem in Abb. 6 dargestellten Versuch zeitl. etwas verschoben, doch im übrigen gleichsinnig (Nach Stoll, Renz und Gäumann, 1956)

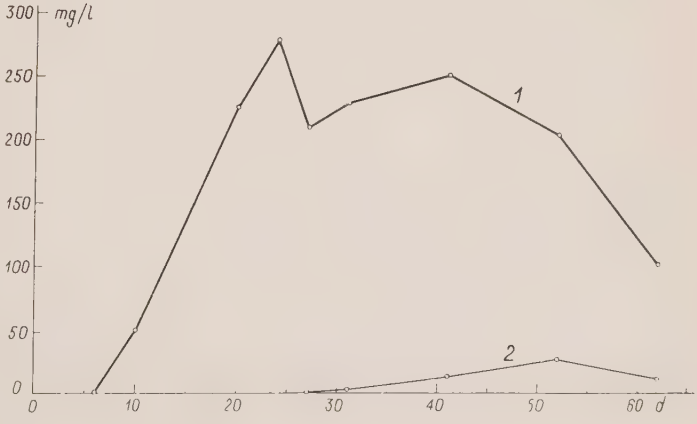


Abb. 8. Der Gehalt der Kulturfiltrate des *Fusarium lycopersici* an reiner, kristallisierter Fusarinsäure (Kurve 1) und an reiner, kristallisierter Dehydrofusarinsäure (Kurve 2) in mg/l. Abszisse: Kulturdauer in Tagen (Nach Stoll, Renz und Gäumann, 1956)

Erregern tatsächlich benützt werden. Jedenfalls ist aber die Fusarinsäure kein Autolyseprodukt; denn in Abb. 6 bis 10 besteht kein unmittelbarer Zusammenhang zwischen dem Myzeltrockengewicht und dem Fusarinsäuregehalt der Kulturlösung.

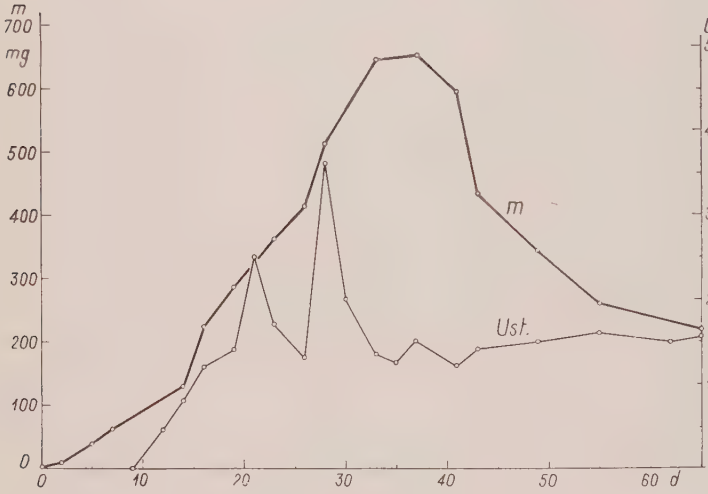


Abb. 9. Der zeitliche Ablauf des Myzelwachstums und der *Ustilago*-Aktivität der *Gibberella-Fujikuroi* bei Kultur in einer Richard$_5$-Nährlösung. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: Kurve *m* durchschnittliches Myzeltrockengewicht in mg je Kolben. Kurve Ust. *Ustilago*-Aktivität der Kulturfiltrate (Nach STOLL und RENZ, 1957)

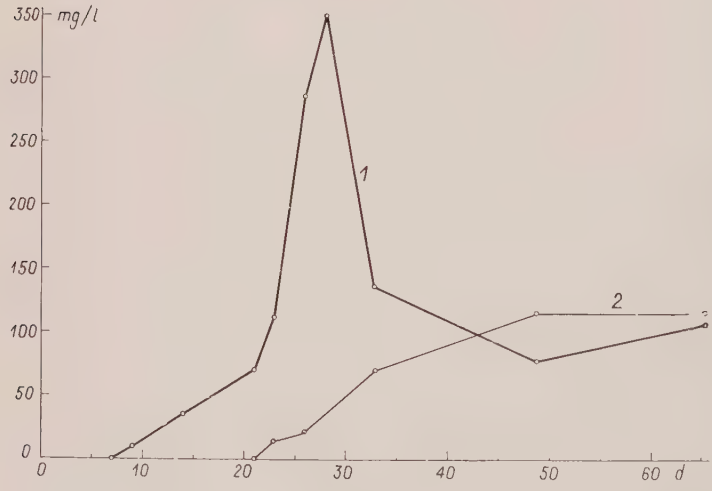


Abb. 10. Der Gehalt der Kulturfiltrate der *Gibberella Fujikuroi* an reiner, kristallisierter Fusarinsäure (Kurve 1) und an reiner, kristallisierter Dehydrofusarinsäure (Kurve 2) in mg/l. Abszisse: Kulturdauer in Tagen (Nach STOLL und RENZ, 1957)

Merkwürdigerweise konnte Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure, im Gegensatz zum Lycomarasmin, noch nie im Innern der Pilzhyphen nachgewiesen werden. Wenn auch die heute bekannten Methoden der Aufschließung der Myzelien keine Gewähr bieten, daß sämtliche Zellinhaltsstoffe in nativer Form anfallen, so müßten doch in den Myzelpräparaten irgendeinmal Spuren dieser beiden Toxine gefunden werden. STOLL (bei STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956) erwägt deshalb, ob die Synthese der beiden Fusarinsäuren nicht extrazellulär erfolgen könnte: der Pilz würde die Vorstufen A und B

in die Nährlösung hinaustreten lassen, ferner eine Gruppe von Fermenten, welche diese beiden Vorstufen zur Fusarinsäure zusammenschließen. Im Innern der Wirtspflanzen würde der Zellinhalt des Wirtes die Funktion der Kulturlösung übernehmen; diese Arbeitshypothese würde es verständlich machen, warum den Fusarinsäurebildnern in nichtkongenialen Wirten die Synthese der Fusarinsäure nicht gelingt: es sind in den Wirtsgeweben gewisse Fermentinhibitoren vorhanden.

Diese Lücken in unserem Wissen um die Biosynthese der Fusarinsäure sind deshalb bedauerlich, weil beim *Fusarium lycopersici* und bei der *Gibberella Fujikuroi* die *Ustilago*-Aktivität der Kulturlösungen während des Heranwachsens der Pilzkulturen eigenartige Schwankungen zeigt, die sich ohne Kenntnis der Biosynthese der Fusarinsäure kaum werden verstehen lassen.

Bei beiden Pilzen durchläuft nämlich die *Ustilago*-Aktivität der Kulturfiltrate schon während der vollen vegetativen Entwicklung des Erregers einen ersten Höhepunkt (Abb. 7 und 9); dann nimmt sie vorübergehend ab, um etwa zehn Tage später (vor oder während dem Kulminationspunkt des Myzelgewichtes) zu einem zweiten Höhepunkt anzusteigen und hernach endgültig abzusinken. In sehr alten Kulturen nimmt immerhin die *Ustilago*-Aktivität, wahrscheinlich wegen toxischer Zerfallsprodukte der Myzelien, gelegentlich nochmals um einen geringen Betrag zu (Abb. 7). Als seltene Ausnahme, so bei einem von Sanwal (1956) veröffentlichten Versuch mit dem Stamm R-5-6 des *Fusarium lycopersici*, kann die Aktivitätskurve auch eingipflig verlaufen.

Falls die pathogene Aktivität des *Fusarium lycopersici* und der *Gibberella Fujikuroi* auch während ihrer parasitischen Phase im Innern des Wirtes einem zweigipfligen Rhythmus folgen würde, so wäre es denkbar, daß das erste Aktivitätsmaximum bei Beginn des akuten Infektes, das zweite Aktivitätmaximum beim Abschluß des chronischen Infektes durchlaufen wird. Vielleicht hängt der unvermittelte Zusammenbruch, der bei manchen Welkekrankheiten die Pathogenese abschließt, mit einem zweiten Aktivitätsmaximum des Erregers zusammen.

Die Ursache der Zweigipfligkeit der Aktivitätskurve liegt bei gewissen Erregern in einer während der verschiedenen Entwicklungsabschnitte quantitativ verschiedenen Produktion ein und desselben Toxines (Fragen des Redoxpotentials?); so durchläuft der Gliotoxin gehalt der Kulturfiltrate von *Aspergillus fumigatus* Fres. und *Trichoderma viride* Pers. nach unveröffentlichten Beobachtungen von D. Kluepfel und M. Juillard sowohl in Stand- als in Schüttelkulturen (Abb. 11) zwei ausgeprägte quantitative Maxima.

Bei andern Erregern gehen jedoch während des Heranwachsens der Kulturen quantitative und qualitative Verschiebungen der Toxinaktivität nebeneinander her; so enthalten die Kulturfiltrate des *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. während einer ersten Entwicklungsphase mehrere Toxine, welche die Entwicklung von *Bacillus subtilis* hemmen und die Blätter von *Melilotus albus* und von *Solanum Lycopersicum* schädigen (Abb. 12), während in reife-

ren Kulturen nur noch der Tomatenblätter schädigende Stoff vorhanden ist und ein zweites Aktivitätsmaximum erreicht (LANDOLT, 1952).

Fusarium lycopersici (STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956) und *Gibberella Fujikuroi* (STOLL und RENZ, 1957) gehören einer dritten Gruppe an. Gipfel ihrer *Ustilago*-Aktivität werden nur zu einem geringen Teil von entsprechenden Höhepunkten der Fusarinsäuregehalte der Kulturfiltrate getragen (Abb. 7 bis 10); insbesondere findet der vorübergehende Aktivitätsverlust zwischen dem ersten und dem zweiten Aktivitätsmaximum in den Fusarinsäuregehalten keine Erklärung; vielleicht wird er durch sekundäre Stoffwechselprodukte bedingt, die vom Erreger in jenem Entwicklungsabschnitt in die Nährlösung ausgeschieden werden und die Fusarinsäure desaktivieren oder binden. Mit dieser stoffwechselphysiologischen Umstellung des Erregers hängt vielleicht zusammen, daß während jener Entwicklungsphase in den Kulturfiltraten die Dehydrofusarinsäure aufzutreten beginnt.

Gewiß bestimmen wir mit der *Ustilago*-Aktivität nur einen Aspekt der pathogenen Wirksamkeit des *Fusarium lycopersici* und der *Gibberella Fujikuroi*, nämlich ihre Fusarinsäure-Aktivität. Wenn sich aber die Beziehungen in diesem Sektor schon in vitro undurchsichtig gestalten, wie kompliziert müssen sie erst im Innern des Wirtes sein.

§ 3. Besondere ernährungsphysiologische Voraussetzungen für die Bildung von Fusarinsäure

Wohl die meisten Krankheitserreger vermögen ihre spezifischen Toxine nur unter bestimmten Voraussetzungen zu synthetisieren.

In gewissen Fällen hängt die Toxinsynthese von der Gegenwart bestimmter spurenwirksamer Elemente ab, die zwar nicht selbst in die betreffende Molekel eingebaut werden, sondern in Enzymsysteme, die ihrerseits für den Aufbau der in Frage stehenden Wirkstoffe entscheidend sind; so wird Diphtherietoxin nur in Gegenwart von Eisen gebildet.

In anderen Fällen entscheidet die allgemeine Lebenslage des Erregers über seine Toxinbildung und damit über seine Pathogenität; so vermögen gewisse Stämme des *Corynebacterium diphtheriae* normalerweise kein Diphtherietoxin zu bilden und sind deshalb apathogen. Werden sie aber durch den Phag B befallen, so werden sie durch diese Erkrankung derart aus ihrer Stoffwechselbahn gedrängt, daß sie nunmehr das Diphtherietoxin reichlich und willig synthetisieren und dadurch ihre Toxigenität und Pathogenität zurückgewinnen (FREEMANN, 1951; GROMAN, 1953).

Auch die Synthese der Fusarinsäure wird durch die Gegenwart oder das Fehlen bestimmter spurenwirksamer Stoffe und durch die allgemeine Lebenslage des Erregers gesteuert.

Einen fördernden Einfluß auf die Fusarinsäureproduktion des *Fusarium vasinfectum* übt z. B. innerhalb bestimmter, sehr enger Grenzen das Zink aus (Abb. 13). Ohne Zink und unterhalb der Schwelle von 0,08 mg/l bildet der Pilz keine Fusarinsäure. Bei 0,24 mg/l erreicht der Fusarinsäurespiegel in der Kulturflüssigkeit sein Optimum. Durch mehr als

0,4 mg Zink je Liter Nährlösung wird die Fusarinsäuresynthese gehemmt. Auch hier besteht, wie in unseren Abb. 6, 9 usw., kein Zusammenhang zwischen dem vegetativen Wachstum des Erregers und seiner Toxinproduktion.

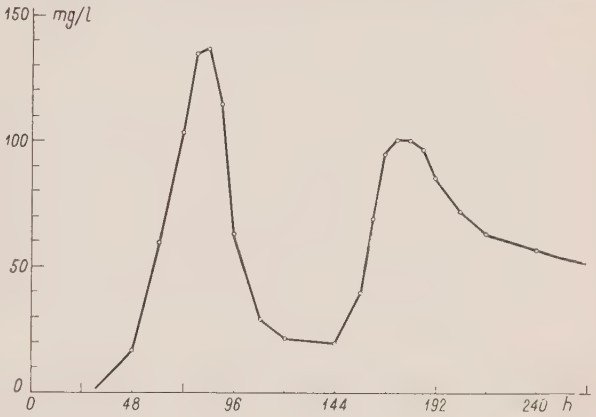


Abb. 11. Die quantitative Verschiebung des Gliotoxingehaltes der Kulturfiltrate beim *Aspergillus fumigatus* Fres. mut. *Helvola* während des Heranwachsens der Pilzkulturen. Abszisse: Kulturdauer in h. Ordinate: Gliotoxingehalt in mg/l. (Original D. KLUEPFEL)

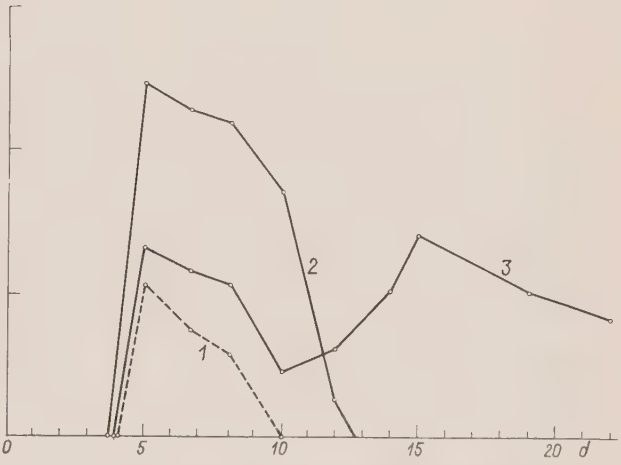


Abb. 12. Der Toxingehalt der Kulturfiltrate des *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. im Verlauf seiner Entwicklung. Abszisse: Kulturdauer in Tagen. Ordinate: Relative Hemmung des *Bacillus subtilis* Cohn (Kurve 1) bzw. Schädigung der Blätter von *Melilotus alba* Desr. (Kurve 2) und von *Solanum Lycopersicum* L. (Kurve 3) (Nach LANDOLT, 1952)

Das Myzelgewicht steigt vielmehr in Abb. 13 zwischen den Zinkgaben von 0,08 bis 4 mg/l gleichmäßig an (KALYANASUNDARAM und SARASWATHI-DEVI, 1955).

Ähnliche Beziehungen zwischen dem Zinkgehalt der Nährlösung und der Toxinsynthese bestehen auch bei den Produzenten der medizinisch interessanten Antibiotica. Das *Penicillium notatum* bildet Penicillin nur in Gegenwart von Zink; ohne Zink bildet es das giftige Notatin. *Streptomyces griseus* synthetisiert das Streptomycin nur in Gegenwart von Zink, Eisen und Kupfer (CHESTERS und ROLINSON, 1951) usw.

Wieder andere Stoffe fördern in Spuren die Fusarinsäuresynthese, ohne daß man heute schon den aktiven Bestandteil kennt; so wirkt Watte-Extrakt, d. i. ein wässeriger Extrakt aus roher Verbandwatte, wirkstoff-

ähnlich und löst in Standkulturen der *Gibberella Fujikuroi* eine Beschleunigung und Steigerung der Fusarinsäureproduktion aus (STOLL, 1954). Eine ähnliche stimulierende Wirkung besitzt Watte-Extrakt auch auf die Penicillinproduktion des *Penicillium notatum* (ETTLINGER, 1946).

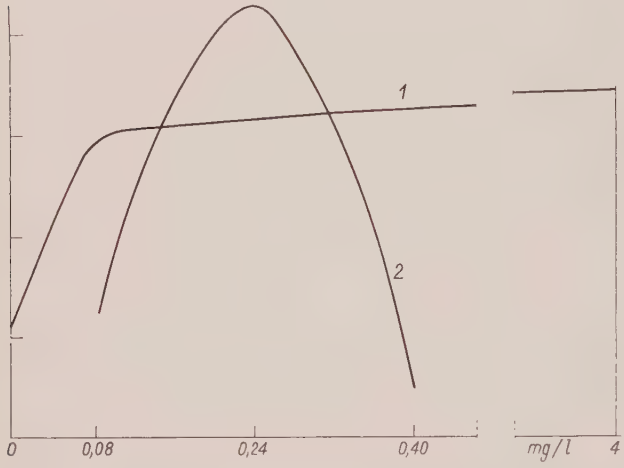


Abb. 13. Der Einfluß des Zinkgehaltes der Nährlösung auf die Fusarinsäureproduktion des *Fusarium vasinfectum* Atk. Abszisse: ml Zink je l Nährlösung. Ordinate: Myzeltrockengewicht (Kurve 1) bzw. antibiotische Aktivität des Kulturfiltrates (Kurve 2), beide in willkürlichen Einheiten; die antibiotische Aktivität dürfte zur Hauptsache von der Fusarinsäure getragen werden (Nach KALYANASUNDARAM und SARAWATHI-DEVI, 1955)

An möglicherweise in vivo wirksamen Hemmstoffen für die Entwicklung der Fusarinsäureproduzenten und für ihre Fusarinsäureproduktion wurde bis jetzt als einziges Beispiel das Tomatin verfolgt, leider mit einem negativen Ergebnis.

IRVING, FONTAINE und DOOLITTLE (1945, 1946) und IRVING (1947) isolierten nämlich aus Tomatenpflanzen ein Glykosid, das Tomatin, das in einem breiten Spektrum antibiotisch wirkt und die Keimung der Konidien des Kartoffel-bewohnenden *Fusarium solani* (Mart.) App. et Wr. noch in der Verdünnung von $2 \cdot 10^{-5}$ molar hemmt. Da es im Gefäß-Saft der Tomatenpflanzen in der Konzentration von etwa 10^{-4} molar vorkommt (KERN, 1952), so stellt es wahrscheinlich einen Resistenzfaktor der Tomatenpflanzen gegenüber dem *Fusarium solani* dar.

Der für die Tomatenpflanzen spezifische Welkeerreger, das *Fusarium lycopersici,* spricht dagegen auf das Tomatin nur wenig an. Die LD_{50} für die Keimung seiner Konidien liegt um etwa zwei Zehnerpotenzen höher als beim *Fusarium solani,* nämlich bei $2 \cdot 10^{-3}$ molar; desgleichen wird bei ihm die Toxinproduktion in vitro und die in vivo-Wirksamkeit seiner beiden wichtigeren Toxine, des Lycomarasmins und der Fusarinsäure, durch das Tomatin nicht herabgesetzt (KERN, 1952). Ähnliches wie für das Tomatin gilt übrigens auch für das Solanin (KERN, 1952).

Der Tomatingehalt der verschiedenen Tomatensorten oder -gewebe entscheidet somit nicht über die Fusarinsäureproduktion des *Fusarium lycopersici* in vivo.

Außer durch diese fördernden oder hemmenden Substanzen wird die Fusarinsäureproduktion der verschiedenen Erreger in vitro auch durch ihre

Lebenslage beeinflußt, wobei sich diese Auswirkung beim vegetativen Wachstum sogar umgekehrt gestalten kann als bei der Fusarinsäureproduktion; so bildet der hochvirulente Stamm R-5-6 des *Fusarium lycopersici* bei bestimmten Durchlüftungsverhältnissen der Kulturen um die Hälfte mehr Myzel als der schwach pathogene Stamm 257, aber rund fünfmal weniger Fusarinsäure (KERN, 1952).

Wie gegensätzlich die Lebenslage eines Erregers unter Umständen sein Wachstum und anderseits die Produktion bestimmter Stoffwechselprodukte steuert, zeigt ein entfernter Verwandter der hier zur Diskussion stehenden Welkeerreger, nämlich das Mutterkorn, *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul.; dieser Pilz läßt auch erkennen, wie sehr ein Krankheitserreger in der parasitischen Phase, also in Beziehung mit dem Wirt, Dinge zu leisten vermag, die ihm in der saprophytischen Kultur nur in geringem Ausmaße gelingen. *Claviceps purpurea* bildet nämlich in vitro viel Myzel, synthetisiert aber in größeren Mengen nur die niederen Alkaloide, die an der Lysergsäure ein N-freies Radikal tragen, so das Agroclavin und das Elymoclavin; in vivo dagegen, d. h. während der parasitischen Phase in den Fruchtknoten der Gramineen, wo sein vegetatives Wachstum gehemmt ist, produziert es die therapeutisch wertvollen Peptidalkaloide wie Ergotamin und Ergotoxin in Mengen bis zu etwa 0,2 % des Trockengewichtes.

Zweifelsohne werden ähnliche Faktoren, wie wir sie hier für die Kultur in vitro besprochen haben, nämlich fördernde oder hemmende Substanzen oder auch nur die Lebenslage des Erregers, auch in vivo, d. h. auch im Innern des Wirtes, darüber entscheiden, ob der Erreger bis zur Synthese der Fusarinsäure (und seiner übrigen Toxine) und damit bis zu seiner vollen Pathogenität gelangt oder nicht. In diesem Falle wären im Beispiel der Tomatenwelke jene Tomatensorten ceteris paribus welkeanfällig, die dem Erreger die Produktion seiner spezifischen Toxine gestatten; und welkeresistent wären jene Sorten, die ihm die Toxinproduktion nicht ermöglichen.

Diese Ungastlichkeit, die den Erreger nicht zu seiner vollen physiologischen Entwicklung kommen läßt, dürfte sich sowohl gegenüber nicht kongenialen Erregern als gegenüber verschiedenartigen Stämmen des *Fusarium lycopersici* auswirken.

Was zunächst die nicht kongenialen Erreger anlangt, so ließen z. B. SCHEFFER und WALKER (1954) Konidiensuspensionen des *Fusarium conglutinans* (des Erregers der Kohlwelke) in Sprossen der für die Tomatenwelke hochanfälligen Tomatensorte Bonny Best aufsteigen und stellten fest, daß der Pilz auch nach 35 Tagen in den basalen Partien der Sprosse noch intakt vorhanden war und trotzdem keine Erkrankung auslöste. Nach unserer Auffassung blieb die Erkrankung der Sprosse deshalb aus, weil sie dem *Fusarium conglutinans* die Produktion seiner spezifischen Toxine nicht ermöglichten. Wenn es sie nämlich bildet (z. B. wenn man Tomatensprosse in entsprechende

Kulturfiltrate des *Fusarium conglutinans* stellt), so erweisen sie sich für diese Toxine als hochempfindlich. Es ist deshalb nach unserer Auffassung nicht etwa eine T o x i n resistenz, welche die Sprosse im Falle der genannten Versuchsanordnung vor dem *Fusarium conglutinans* schützt, sondern bloß der Umstand, daß sie die Voraussetzungen für die Toxin b i l d u n g des *Fusarium conglutinans* nicht erfüllen.

Ähnlich gestalten sich wahrscheinlich die Verhältnisse bei verschieden virulenten Stämmen des *Fusarium lycopersici*. Gewiß ist bei ihnen die Fähigkeit zur G e n e r a l i s a t i o n verschieden entwickelt, sehr hoch beim Stamm R-5-6 des US Department of Agriculture, verhältnismäßig niedrig beim Stamm 257; dennoch kann der Stamm 257 zuweilen aus Teilen von Tomatenpflanzen rückisoliert werden, die k e i n e S y m p t o m e zeigen und in welchen somit der Erreger wohl bis zur Besiedlung, aber nicht bis zur Toxinbildung und deshalb nicht bis zur Auslösung von Symptomen gelangte.

Die verschieden welkeanfälligen Tomatensorten sind ja für die beiden wichtigeren spezifischen Toxine des *Fusarium lycopersici*, nämlich für das Lycomarasmin (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950) und die Fusarinsäure (KERN, 1952), in gleicher Weise empfindlich. W e n n also diese Toxine gebildet werden, so sprechen sämtliche Tomatensorten in gleicher Weise auf sie an. Die unterschiedliche Pathogenität der verschiedenen Erregerstämme für die verschiedenen Tomatensorten muß also neben den anderen Resistenzfaktoren darauf beruhen, daß gewisse welkewiderstandsfähige Tomatensorten dem Erreger keine hinreichende Toxinproduktion gestatten; so ließen SCHEFFER und WALKER (1954) Konidiensuspensionen eines hochvirulenten Stammes des *Fusarium lycopersici* in Sprossen der welkewiderstandsfähigen Tomatensorte Jefferson aufsteigen; die Sprosse blieben an der Basis dauernd infiziert und erkrankten trotzdem nicht, nach unserer Auffassung deshalb, weil sie die Voraussetzungen für die Toxinsynthese nicht erfüllten.

Wird aber bei diesen Sprossen die Atmung blockiert, indem man sie 2,4-Dinitrophenol oder andere atmungshemmende Gifte aufnehmen läßt, so erkranken sie in typischer Weise. GOTHOSKAR, SCHEFFER, WALKER und STAHMANN (1955) nehmen an, daß bei der Atmung dauernd ein für den Pilz toxischer Stoff entsteht, der sein Vordringen hemmt, aber derart labil ist, daß er sich in Preßsäften und Extrakten nicht nachweisen läßt. Wir fragen uns, ob sich diese Ergebnisse nicht einfacher auf Grund der Toxintheorie erklären lassen: Solange die Sorte Jefferson ihre volle Vitalität besitzt, verhindern ihre Abwehrreaktionen, daß der Erreger zur Toxinbildung gelangt, und d e s h a l b vermag er den Widerstand des Wirtes nicht zu brechen. Sobald jedoch der Wirt entscheidend geschwächt wird, gelangt der Erreger zu seiner vollen Entfaltung.

Auf der gleichen Grundlage, weil ein ungastlicher Wirt dem Welkeerreger die T o x i n bildung nicht gestattet, möchten wir die Ergebnisse einiger homologer P f r o p f v e r s u c h e erklären (Tabelle 2). Werden Reiser der

hochgradig welkewiderstandsfähigen Tomatensorte Pan America auf die welkeanfällige Tomatensorte Bonny Best als Unterlage gepfropft, so erkranken sie ebenso stark wie Bonny Best-Reiser auf Bonny Best-Unterlagen. Bonny Best-Reiser auf Pan America-Unterlagen erkranken dagegen nur in dem geringen Ausmaße wie Pan America-Reiser auf Pan America-Unterlagen oder wie wurzelechte (nicht gepfropfte) Pan America-Pflanzen (HEINZE und ANDRUS, 1945).

Tabelle 2

Der Einfluß der Unterlage auf die Welkeanfälligkeit des Reises bei Tomatenpflanzen

(Nach HEINZE und ANDRUS, 1945)

Pfropfkombination	Symptome zeigend	Ohne oder nur mit schwachen Symptomen
Bonny Best-Reis auf Pan America-Unterlage	8	113
Pan America-Reis auf Bonny Best-Unterlage	120	0
Bonny Best-Reis auf Bonny Best-Unterlage	98	1
Pan America-Reis auf Pan America-Unterlage	4	93
Bonny Best wurzelecht	81	4
Pan America wurzelecht	8	77

Die Toxinempfindlichkeit beider Tomatensorten ist gleich groß; verschieden ist nach unserer Auffassung nur ihre Fähigkeit, dem Erreger die Generalisation und insbesondere die Toxinbildung zu gestatten: auf Bonny Best gelangt der Erreger bis zur Toxinbildung und vermag deshalb das aufgepfropfte Pan America-Reis zu schädigen; auf Pan America gelangt er dagegen nicht zur Generalisation und auch nicht zur Toxinbildung und vermag deshalb weder in das Bonny Best-Reis hinaufzudringen noch dasselbe durch seine Toxine indirekt zu schädigen. Dieselbe Situation besteht nach unserer Auffassung bei den heterologen Pfropfversuchen von DAVIS (1954), die wir im folgenden Kapitel besprechen werden.

Aus diesem Grunde, weil der Wirt die Toxinsynthese in vivo steuert, besteht in manchen Fällen keine unmittelbare Beziehung zwischen der Pathogenität eines Erregers in vivo und seiner Toxigenität in vitro: in vivo hochvirulente Stämme können in vitro schwach toxigen sein und umgekehrt (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950, für das Lycomarasmin; KERN, 1952, für die Fusarinsäure).

Die Penetranz des Erregers in vivo hängt eben in diesem Falle nach unserer Auffassung davon ab, wie weit er im Innern des Wirtes seinen eigenen Stoffwechsel durchzusetzen und dabei bis zur Toxinsynthese zu gelangen vermag. Ist er einmal so weit, so ist der Widerstand des Wirtes wohl bald gebrochen.

Vielleicht gelingt es, mit Hilfe der Isotopentechnik, wie sie von KERN und SANWAL (1954) und KERN und KLUEPFEL (1956) für das *Fusarium lyco-*

persici in Angriff genommen wurde, diese Fragen auf experimenteller Grundlage zu beantworten.

3. KAPITEL

Das Bildungs- und Wirkungsspektrum der Fusarinsäure

§ 1. Das Bildungsspektrum der Fusarinsäure

Die beiden hier zu besprechenden Vertreter der Fusarinsäuregruppe, die Fusarinsäure und die Dehydrofusarinsäure, sind bis jetzt nur bei Pilzen aus der Familie der Hypocreaceen nachgewiesen worden, nämlich bei

1. *Fusarium lycopersici* Sacc., dem Erreger einer infektiösen Tomatenwelke in Europa und Nordamerika (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952). Dieser Pilz bildet neben Fusarinsäure auch Dehydrofusarinsäure (STOLL, RENZ und GÄUMANN, 1956).

2. *Fusarium vasinfectum* Atk., dem Erreger der kosmopolitischen Welkekrankheit der Baumwollpflanzen (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; LAKSHMINARAYANAN und SUBRAMANIAN, 1955; KALYANASUNDARAM und VENKATA RAM, 1956). Bei diesem Pilz ist bis jetzt nur die reine Fusarinsäure nachgewiesen worden.

3. *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr., dem Erreger der Rotpustelkrankheit auf Alleebäumen und zahlreichen anderen phanerogamischen Gewächsen (GÄUMANN, 1954). Bei diesem Pilz ist bis jetzt ebenfalls nur die reine Fusarinsäure bekannt.

4. *Gibberella Fujikuroi* (Saw.) Woll. = *Fusarium moniliforme* Sheld., einem Erreger der Bakanaë-Krankheit auf Reis, Mais und Zuckerrohr in Ostasien. Dieser Pilz bildet sowohl Fusarinsäure (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952) als Dehydrofusarinsäure (STOLL, 1954; STOLL und RENZ, 1957).

5. *Fusarium heterosporum* Nees, das auf der ganzen Erde saprophytisch oder als unspezifischer Parasit auf Gräsern, Äpfeln, Mutterkornsklerotien usw. lebt. Es wurde von mehreren japanischen und europäischen Autoren irrtümlicherweise für synonym mit der *Gibberella Fujikuroi* gehalten, ist aber nicht mit ihr identisch (BORROW, BRIAN, CHESTER et al., 1955). Die Differenzierung zwischen Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure wurde bei ihm noch nicht durchgeführt; da aber YABUTA, KAMBE und HAYASHI (1934) für ihr Fusarinsäurepräparat einen zu hohen Schmelzpunkt angeben (107 bis 109 °), so besteht die Möglichkeit, daß sie mit einem Gemisch von Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure gearbeitet haben.

6. *Fusarium orthoceras* App. et Woll., einem kosmopolitischen Saprophyten und Erreger einer Gefäßbündel- und Welkekrankheit bei Erbsen, Kartoffeln usw. Der Nachweis von Fusarinsäure erfolgte durch C. S. VENKATA RAM in Madras (briefliche Mitteilung). Das Vorkommen von Dehydrofusarinsäure wurde noch nicht verfolgt.

Diese sechs Pilze verhalten sich in pflanzenpathologischer Hinsicht völlig verschieden:

Das *Fusarium lycopersici* und das *Fusarium vasinfectum* sind Erreger von echten Welkekrankheiten und können durch ihre Toxine einen Welkezusammenbruch ihres Wirtes einleiten. Ähnliches ist bei gewissen Rassen des *Fusarium orthoceras* der Fall.

Nectria cinnabarina ist dagegen ein ausgeprägter Perthophyt, der die Wirtsgewebe unmittelbar vor sich her vernichtet und wohl nur selten Fernwirkungen nach Art der Welkeerreger auslöst.

Gibberella Fujikuroi gehört einer ganz anderen Krankheitsgruppe an und bewirkt je nach den Umständen unmittelbare Nekrosen oder hexenbesenartige Wachstumssteigerungen.

Das *Fusarium heterosporum* ist nur ein Halbparasit und gedeiht ebenso willig in der saprophytischen Lebensform.

Die Fähigkeit, Fusarinsäure zu synthetisieren, ist also nach unserem heutigen Wissen auf eine einzige Pilzfamilie beschränkt, aber innerhalb dieser Familie weder für eine bestimmte Gattung oder Art noch für einen bestimmten Erreger- oder Krankheitstypus (also z. B. nicht für Welkekrankheitserreger) charakteristisch.

Dieses breite Bildungsspektrum der Fusarinsäure bringt es mit sich, daß sie wohl bei jeder der sechs genannten Pilzarten mit anderen Stoffwechselprodukten des betreffenden Erregers zusammenarbeiten muß. Zwei Beispiele, die Bakanaëkrankheit des Reises und die infektiöse Tomatenwelke, mögen dies verdeutlichen.

Gibberella Fujikuroi (Saw.) Woll., der Erreger der Bakanaëkrankheit des Reises usw., bildet neben der Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure zwei Stoffe aus der Gibberellingruppe, nämlich das Gibberellin A und die Gibberellinsäure; beide besitzen Wuchsstoffcharakter.

Gibberellin A, eine hocharomatische stickstofffreie Verbindung mit der Bruttoformel $C_{22}H_{26}O_7$ löst zwar, im Gegensatz zu den Auxinen, keine Zellteilungen im Kallus von *Bryophyllum* usw. aus, unterdrückt bei Erbsen usw. die Entwicklung der Seitenknospen nicht, bewirkt bei Tomatensprossen keine Epinastie und ist in den üblichen *Avena*- und *Pisum*-Testen inaktiv (Sumiki, 1952); dagegen löst es bei keimenden Sojabohnen eine Streckung der Keimlinge aus, so daß sie am dritten Tag um etwa 2 bis 4 cm länger sind als bei den Kontrollen; ferner wird ihr Vitamin C-Gehalt bis zum neunten Tag um rund einen Viertel übersteigert (Yabuta, Sumiki, Murayama und Suzuki, 1941). Bei Reiskeimlingen führt das Gibberellin zu einer Streckung der Halme und der Blätter, später auch zu einer Zunahme des Trockengewichtes (Yabuta, Sumiki, Fukunaga und Horiuchi, 1951; Hayashi, Takijima und Murakami, 1953). Ferner stimuliert es die Amylaseaktivität in keimenden Gersten-, Weizen- und Reiskörnern (Hayashi, 1940).

Gibberellinsäure, ein Derivat des Gibberellins mit der Bruttoformel $C_{19}H_{22}O_6$ (Cross, 1954), wird vorzugsweise von den reisbewohnenden Stämmen der *Gibberella Fujikuroi* gebildet (Borrow, Brian, Chester et al.,

1955). Sie besitzt ähnliche physiologische Eigenschaften wie das Gibberellin A, nur in höherem Maße, löst auch ihrerseits bei zahlreichen Mono- und Dikotyledonen eine Streckung der Internodien und der Blätter und eine Zunahme des Trockengewichtes aus, hemmt aber gleichzeitig die Entwicklung der Wurzeln (BRIAN, ELSON, HEMMING und RADLEY, 1954; BRIAN und HEMMING, 1955; BRIAN, HEMMING und RADLEY, 1955; LONA, 1956; LONA und BOCCHI, 1956).

Ein Gemisch von Gibberellinsäure und Gibberellin A induziert bei *Hyoscyamus niger* (LANG, 1956) und bei *Bryophyllum crenatum* und *Br. daigremontianum* (BÜNSOW und HARDER, 1956) eine Streckung der Internodien und die Blütenbildung.

Im Innern der Reispflanzen greifen deshalb zwei verschiedenartige Stoffgruppen mit ihren Aktionsfeldern ineinander, einmal die echten Toxine der Fusarinsäuregruppe, die schon für sich allein je nach ihrer Konzentration gegensinnig wirken (z. B. bei niederer Konzentration die Wasserpermeabilität der Protoplasten erhöhen und sie bei höherer Konzentration herabsetzen; GÄUMANN und LOEFFLER, 1956), und sodann die wuchsstoffartigen Substanzen der Gibberellingruppe, die wahrscheinlich auch ihrerseits die Wirtsgewebe je nach ihrer Konzentration unterschiedlich, und zwar auch wieder gegensinnig schädigen; und endlich wird auch der W i r t dieses Kräftespiel beeinflussen, indem er je nach seiner Lebenslage die Bildung des einen oder des andern dieser Stoffe begünstigt oder hemmt.

Die wechselnde Verzahnung dieser gegensinnigen Kräfte führt zu dem labilen und oft gegensätzlichen Verlauf der Bakanaëkrankheit: schwache Reispflanzen werden in ihrer Entwicklung gehemmt und gehen zuweilen ein; kräftigere Individuen werden dagegen in ihrer Stoffproduktion gesteigert, so daß sie auf dem Felde schon äußerlich durch ihre größere Länge hervorstechen (Bakanaë-Effekt; GÄUMANN, 1951, Abb. 415).

Ebenso komplex wie bei der *Gibberella Fujikuroi,* nur vielleicht weniger gegensätzlich, gestaltet sich das Zusammenspiel der spezifischen Toxine beim *Fusarium lycopersici.* Hier bildet der Erreger neben der hier zur Diskussion stehenden Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure noch Äthylen, Lycomarasmin, Vasinfuscarin, Äthanol und Bernsteinsäure.

Das Ä t h y l e n C_2H_4 verursacht bei jungen Tomatenpflanzen schon in der Konzentration von etwa 10^{-7} molar eine Epinastie der Blattstiele (ein Niederbiegen derselben, das zum Niederhängen der im übrigen noch turgeszenten unteren Laubblätter führt), in stärkerer Konzentration ein Vergilben der Blattspreiten (DIMOND und WAGGONER, 1953).

Das L y c o m a r a s m i n besitzt zum Teil ähnliche, zum Teil andere Wirkungsmechanismen als die Fusarinsäure und löst bei Tomatenpflanzen ähnliche Symptome aus wie diese (GÄUMANN, NAEF-ROTH und MIESCHER, 1950).

Das V a s i n f u s c a r i n ist ein noch nicht näher bearbeitetes Toxin mit enzymatischem Charakter, das Gefäßbündelbräunungen verursacht (GÄU-

MANN, STOLL und KERN, 1953), also ähnliche Symptome auslöst, wie sie durch die unspezifischen Polyphenoloxydasen hervorgerufen werden (GOTHOSKAR, SCHEFFER, WALKER und STAHMANN, 1953; DAVIS, WAGGONER und DIMOND, 1953; WINSTEAD und WALKER, 1954; DAVIS und DIMOND, 1954; WAGGONER und DIMOND, 1955).

Die mutmaßliche Rolle des Äthanols wurde schon auf Seite 5 erwogen; es dürfte als Wegbereiter eine ähnliche Bedeutung besitzen wie das Lycomarasmin und die Fusarinsäure, zum mindesten in niederen Konzentrationen, wie sie zu Beginn der Pathogenese vorliegen.

Auch die Bernsteinsäure löst in biologischen Konzentrationen für sich allein bei Tomatensprossen keine Symptome aus; dagegen erhöht sie, wenn gleichzeitig appliziert, die Toxizität der Fusarinsäure, nicht aber des Lycomarasmins (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952, S. 277).

Die Fusarinsäure wirkt also auch im Falle des *Fusarium lycopersici* nicht für sich allein (wie in unseren Modellversuchen) auf die Wirtspflanzen ein, sondern in Zusammenarbeit mit mindestens fünf oder sechs anderen Toxinen und Begleitstoffen.

Es werden wohl Jahre vergehen, ehe wir die Resultante dieses Kräftespieles, nämlich das Krankheitsbild und den Krankheitsverlauf, aus dem Zusammenwirken all dieser Komponenten zu „verstehen" vermögen; denn gerade das Beispiel der Tomatenwelke lehrt, daß bei komplexen Summationseffekten ein ähnliches Krankheitsbild, also eine Phänokopie, auch dann zustande kommt, wenn wichtige Einzelkomponenten durch andere Toxine ersetzt werden; so fehlt das *Fusarium lycopersici* in Südindien, und doch besteht dort eine symptomatologisch wohl kaum unterscheidbare Welkekrankheit der Tomatenpflanzen, die durch andere Fusarien, u. a. durch das *Fusarium lateritium* Nees und das *Fusarium scirpi* Lamb. et Fautr., verursacht wird (PRASANNA VARMA, 1954).

Bei diesen zwei Fusarien konnte jedoch bis jetzt keine Fusarinsäure und kein Lycomarasmin, sondern (neben anderen, noch nicht definierten Toxinen) nur das Enniatin A nachgewiesen werden (GÄUMANN, ROTH, ETTLINGER, PLATTNER und NAGER, 1947; GÄUMANN, NAEF-ROTH und ETTLINGER, 1950).

Enniatine sind phytotoxisch wirkende Polypeptide von besonderer Konfiguration (zyklische Tetrapeptoide). Das hier zur Diskussion stehende Enniatin A besitzt die Bruttoformel $C_{24}H_{12}O_6N_2$ und das Molekulargewicht 455 (PLATTNER und NAGER, 1947, 1948; PLATTNER, NAGER und BOLLER, 1948; NAGER, 1948; ZEHNDER, 1951); mit ihm ist das Lateritiin I von COOK, COX, FARMER und LACEY (1947) und COOK, COX und FARMER (1948) identisch. Enniatin A wirkt auf Tomatengewebe äußerst giftig; der Schwellenwert für eine deutliche Schädigung von Gewebestreifen aus Tomatenblättern liegt bei der Konzentration von $9{,}7 \cdot 10^{-7}$ molar (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952).

Makroskopisch wirkt das Enniatin A vor allem auf die Stengel der Tomatenpflanzen und verursacht dort schon in der Dosis von 15 mg je kg Lebendgewicht eine Nekrose der Gefäßbündel und einen rillenartigen Zerfall

der Rindengewebe. Welche übrigen Toxine und Begleitstoffe dieser beiden Fusarien noch mitwirken, ist unbekannt. Wesentlich ist in dem vorliegenden Zusammenhange nur, daß bei einem komplexen Toxinbesteck, wie es von den pflanzenpathogenen Fusarien geschaffen wird, einzelne Toxine durch andere ersetzt werden können, ohne daß dies in der Pathogenese (im vorliegenden Falle im Krankheitsbild der Tomatenwelke) augenfällig zum Ausdruck kommt.

Diese geringe Spezifität des Summationseffektes hängt wohl auch damit zusammen, daß die Pflanze auf die Toxine eines Erregers nur in einem beschränkten Rahmen zu antworten vermag; die auffallenderen Krankheitssymptome, so die Bräunung der Gefäßbündel, die Nekrose der Grundgewebe, die Aussteifung oder der Welkezusammenbruch der Sprosse, sind weitgehend unspezifisch und können durch alle möglichen Ursachen ausgelöst werden. Dieses Schicksal der geringen Spezifität der Reizantwort teilen die pflanzlichen Krankheitssymptome mit den ebenfalls unspezifischen Erkrankungssymptomen der Humanmedizin wie dem Schmerz und dem Fieber.

§ 2. Das Wirkungsspektrum der Fusarinsäure

Entsprechend der biologischen Verschiedenheit der Pilze, welche Fusarinsäure synthetisieren, ist auch ihr Wirkungsspektrum breit und unspezifisch.

Unter den Bakterien hemmt sie das Wachstum von *Bacillus subtilis, Escherichia coli, Bacillus megatherium* und von Paratuberkelbazillen in der Verdünnung von 10^{-4} molar, *Streptococcus faecalis, Micrococcus pyogenes* var. *aureus, Pseudomonas aeruginosa* und *Candida vulgaris* in der Verdünnung von 10^{-3} molar (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952; YASUF, 1949).

Unter den Grünalgen sind *Spirogyra nitida* und *Haematococcus* spec. sehr fusarinsäureempfindlich; die Wasserpermeabilität der ersteren wird durch Fusarinsäure schon in der Konzentration von $5 \cdot 10^{-8}$ molar geschädigt (BACHMANN, 1956).

Unter den Pilzen liegt die LD_{50} für die Hemmung der Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae* bei der Konzentration von $1{,}5 \cdot 10^{-4}$ molar (KERN, 1952; KOBEL, 1951). Das Myzelwachstum des *Corticium vagum* wird dagegen erst durch eine Fusarinsäure-Konzentration von 10^{-3} molar meßbar gehemmt (REUSSER und NAEF-ROTH, 1956).

Unter den Phanerogamen sprechen Dutzende der verschiedenartigsten Mono- und Dikotylen auf Fusarinsäure an. Wir kennen zur Zeit keine phanerogamische Testpflanze, die durch Fusarinsäure nicht geschädigt würde.

Zwischen dem Wirkungsspektrum der Fusarinsäure und dem Wirtsspektrum der sie produzierenden Krankheitserreger besteht demnach eine starke Diskongruenz; so besitzt das *Fusarium lycopersici* ein enges Wirtsspektrum und befällt zur Hauptsache nur Tomatenpflanzen, während eines seiner Toxine, die Fusarinsäure, in einem breiten Wirkungsspektrum alle möglichen Pflanzen schädigt, die dem sie bildenden Pilze nie zugänglich wären. Aus dieser Diskongruenz der beiden Spektren ergibt sich, daß die Anfälligkeit

bzw. Widerstandsfähigkeit eines Wirtes für den betreffenden Erreger durch ganz andere Mechanismen entschieden wird als seine Empfindlichkeit bzw. Widerstandsfähigkeit gegen die Toxine dieses Erregers.

Ein schönes experimentelles Beispiel für diese Diskongruenz zwischen dem Wirtsspektrum eines Erregers und dem Wirkungsspektrum seiner Toxine wurde durch die Pfropfversuche von Davis (1954) gewonnen, der Reiser von *Solanum tuberosum* L., *Solanum nigrum* L., *Nicotiana tabacum* L., *Capsicum frutescens* L. und *Physalis Alkekengi* L. auf Unterlagen der hochanfälligen Tomatensorte Bonny Best pfropfte und die letzteren mit *Fusarium lycopersici* infizierte. Der Pilz blieb auf die Unterlage beschränkt; aber die Bräunung der Gefäßbündel und das Welken der Blätter erschien auch bei den nichtinfizierten Reisern, und zwar noch früher als bei den Unterlagen: bei den Tomatenpflanzen 14 bis 21 Tage nach der Infektion, bei *Nicotiana* 4 bis 6, bei *Solanum tuberosum* 5 bis 7, bei *Solanum nigrum* 6 bis 9, bei *Capsicum frutescens* 7 bis 9 und bei *Physalis Alkekengi* 7 bis 11 Tage nach der Infektion.

Die Pfropfreiser sind also für das *Fusarium lycopersici* nicht infektionsanfällig (denn sie werden von ihm nicht besiedelt); sie sind aber sehr empfindlich für seine Toxine, unter denen zweifelsohne die Fusarinsäure eine bedeutende Rolle spielt, und zwar noch empfindlicher als die hochanfällige Tomatensorte Bonny Best.

Innerhalb des weiten phanerogamischen Wirkungsspektrums der Fusarinsäure ist die Sensibilität der verschiedenen Wirtsarten sowohl quantitativ als qualitativ verschieden, ohne daß sich aus dem geringen Material schon heute eine Gesetzmäßigkeit herauslesen ließe.

Tabelle 3

Die Sensibilität verschiedener Wirtsarten für Fusarinsäure
(Nach Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952)

Testobjekt	dosis minima mg je kg Lebendgewicht
Roggen, *Secale cereale*	1000 — 2000
Mais, *Zea Mays*	1000 — 2000
Erbsen, *Pisum sativum*	1000 — 2000
Bohnen, *Phaseolus vulgaris*	100 — 200
Reis, *Oryza sativa*	100 — 200
Tomatensprosse, *Solanum Lycopersicum*	150
Baumwolle, *Gossypium herbaceum*	10 — 20

In Tabelle 3 wurden die Fusarinsäuremengen zusammengestellt, die notwendig sind, um bei den betreffenden Wirtspflanzen Schädigungen von der Intensität 1,5 auszulösen; diese Schädigungsgrenze von 1,5 bezeichnen wir als die „dosis minima". Die Art der Bonitierung wird für Tomatensprosse im 5. Kapitel beschrieben; für die übrigen Wirte wurde das betreffende Schema

sinngemäß angepaßt. Roggen, Mais und merkwürdigerweise auch Erbsen sprechen auf Fusarinsäure nur wenig an, Bohnen und Reis dagegen rund zehnmal stärker. Am empfindlichsten reagieren Baumwollpflanzen, liegt doch bei ihnen die dosis minima rund hundertmal niedriger als bei Roggen, Mais und Erbsen.

Abb. 14. Schädigung einer Baumwollkeimpflanze durch Fusarinsäure. Verabreichte Toxinmenge 20 mg je kg Frischgewicht in der Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ molar, eingestellt auf pH 4,3. Nat. Gr. (Nach GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952)

Neben diesen quantitativen Abstufungen der Toxinsensibilität bestehen bei den verschiedenen Wirtsarten auch erhebliche Unterschiede in der gewebespezifischen Sensibilität, die jedoch im einzelnen noch nicht näher herausgearbeitet sind; so bleibt bei jungen Roggen- und Reispflanzen der Halm nach Verabreichung der dosis minima turgeszent, und es wird nur das unterste Blatt geschädigt, während beim Mais vor allem das unterste Halmstück auf das Toxin anspricht. Bei jungen Erbsen- und Bohnenpflanzen werden sowohl der Stengel als die Blätter in Mitleidenschaft gezogen, während bei Baumwollkeimlingen vor allem der Stengel und die Blattstiele kollabieren, während die Primärblätter zunächst nur längs ihrer Nerven geschädigt werden (Abb. 14).

Diese Unterschiede in den grobsinnlichen Symptomen der Fusarinsäureschädigung lassen vermuten, daß es bei den verschiedenen Wirtsarten nicht nur unterschiedliche Mengen von Fusarinsäure braucht, um denselben pathogenen Effekt zu erzielen, sondern daß überdies auch die Angriffspunkte der Fusarinsäure bei den verschiedenen Wirtsarten an unterschiedlicher Stelle liegen, also bis zu einem gewissen Grade gewebespezifisch sind.

Bei der Dehydrofusarinsäure ist die Breite des Wirkungsspektrums noch nicht eingehend geprüft worden; es dürfte aber kaum enger sein als das der Fusarinsäure. Die Dehydrofusarinsäure schädigt, wie die Fusarinsäure, sowohl Tomatenpflanzen wie keimende Brandsporen von *Ustilago zeae;* bei den Blättern der Tomatensprosse ist ihr Wirkungsgrad ceteris paribus etwa gleich wie derjenige reiner Fusarinsäure, bei den Stengeln der Tomatensprosse und im *Ustilago*-Test dagegen nur etwa halb so groß (Tabelle 4).

Tabelle 4

Der durchschnittliche Wirkungsgrad der Dehydrofusarinsäure, bezogen auf den schädigenden Effekt reiner Fusarinsäure bei denselben Objekten (= 100 %)
(Nach Stoll, 1954)

Objekt	Relative Schädigung %
Stengel von jungen Tomatensprossen	40
Blätter von jungen Tomatensprossen	86
Keimung der Brandsporen von *Ustilago zeae*	58

Wenn somit ein Kulturfiltrat mit Hilfe des *Ustilago*-Testes auf seinen Gehalt an Fusarinsäure und Dehydrofusarinsäure geprüft wird, so liegen die Werte im Dehydrofusarinsäure-Sektor zu tief. Genaue Zahlen lassen sich in diesem Falle nur durch quantitative chemische Bestimmung gewinnen.

4. KAPITEL

Der Nachweis der Fusarinsäure in vivo

Bei jedem Stoffwechselprodukt eines Krankheitserregers stellt sich die Frage, ob es von dem betreffenden Erreger bloß in künstlicher Kultur, also bloß in vitro, gebildet wird und deshalb in gewissem Sinne ein Artefakt darstellt, oder ob es in identischer Form auch in vivo, also auch im Innern des Wirtes, synthetisiert wird.

Um diese Frage im Falle der Fusarinsäure einwandfrei zu beantworten, müßte man sie unmittelbar als solche in den geschädigten Wirtsgeweben nachweisen.

Ein derartiger direkter Nachweis gelingt ohne weiteres bei Stoffen, die, wie gewisse Metalle (Blei, Kupfer, Quecksilber usw.), auch nach ihrer Fixierung im Wirt wiedererkannt werden können. Die parasitogenen Toxine verlieren jedoch bei der Fixierung an ihre Rezeptoren ihre chemische Identität und „verschwinden" dadurch an ihrem Wirkungsort als solche; so beruht ein Teil der Giftwirkung der Fusarinsäure darauf, daß sie mit den Eisen- und anderen Schwermetallionen des Wirtes wasserunlösliche, zyklisch gebaute Komplexe (Chelate) bildet und die betreffenden Ionen den Enzymsystemen des Wirtes entzieht; durch diese Chelierung mit Schwermetallionen geht jedoch in den Wirtsgeweben eine entsprechende Zahl freier, d. h. ohne weiteres als Fusarinsäure erkennbarer Fusarinsäuremolekel verloren.

In den Wirtsgeweben können deshalb nur jene Toxinmolekel unmittelbar nachgewiesen werden, welche

a) sich noch auf ihrem Wanderungswege befinden und mangels Haftpunkten noch nicht zur Betätigung gelangten;

b) zwar in das Innere der sensibeln Wirtszellen gedrungen sind, aber dort aus zeitlichen Gründen noch nicht reagiert haben; und

c) in den sensibeln Wirtsgeweben im Überschuß vorhanden sind und deshalb keinen Reaktionspartner mehr finden.

a) Der Mangel an Haftpunkten. Auf dem Wege vom Orte ihrer Bildung zum Orte ihrer spezifischen Wirksamkeit passiert die Fusarinsäure die Leitungsbahnen der Tomatensprosse, ohne in ihnen Symptome auszulösen (sie schädigt ja in manifester Weise höchstens die Grundgewebe der Stengel); deshalb darf vermutet werden, daß in den Gefäßen die Haftpunkte fehlen, welche der Fusarinsäure eine Fixierung und dadurch ein „Verschwinden" ermöglichen würden.

Wenn also native Fusarinsäure in vivo nachgewiesen werden soll, so wird man in erster Linie im Transpirationsstrom der Gefäße suchen gehen.

b) Die Reaktionsgeschwindigkeit der Toxinmolekel. Toxine, die den Wirt erst in hoher Konzentration schädigen, müssen offenbar in den Wirtszellen zahlreiche Haftpunkte besetzen, ehe sie ihre Wirkungsschwelle überschreiten. Sie arbeiten deshalb langsam und sind dementsprechend leichter in vivo nachzuweisen als stark giftige, d. h. rasch wirkende und rasch fixierte Molekel.

Chloramphenicol (Chloromycetin) beginnt z. B. die Länge von Gewebestreifen aus Tomatenblättern erst bei der Konzentration von $1{,}3 \cdot 10^{-3}$ molar zu verändern, Fusarinsäure dagegen schon in der Konzentration von $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ molar (GÄUMANN, NAEF-ROTH, REUSSER und AMMANN, 1952)[1]). Chloramphenicol muß deshalb in den Wirtszellen rund 100mal stärker angereichert sein als Fusarinsäure, um bei Gewebestreifen denselben pathogenen Effekt auszulösen; sie läßt sich dementsprechend in den Geweben in erheblichen Mengen nachweisen (CROWDY, GARDNER, GROVE und PRAMER, 1955).

Fusarinsäure wird dagegen sehr rasch fixiert und wirkt dementsprechend sehr rasch; die durch sie ausgelöste Schädigung der osmotischen Eigenschaften der Protoplasten von *Spirogyra*-Zellen oder von Epidermiszellen von *Rhoeo discolor* erreicht schon innerhalb zehn Minuten ihren Höchstwert (BACHMANN, 1956). Die Hoffnung, in den Protoplasten der sensiblen Wirtsgewebe „noch nicht reagiert habende" Fusarinsäuremolekel anzutreffen, ist deshalb gering.

Diese kurze Reaktionszeit steht in einem scheinbaren Widerspruch zu der Tatsache, daß bei den Tomatensprossen die volle Ausprägung der Symptome der Fusarinsäureschädigung erst nach 48 Stunden erreicht wird. Nur handelt es sich bei diesen Symptomen nicht um die Schädigungen als solche, sondern um die visuellen, für uns Menschen sichtbar werdenden Folgen der Schädigung, bestehend in Nekrosen, postmortalen Verfärbungen usw. Diese brauchen zu ihrer vollen Ausprägung 48 Stunden.

c) Der Überschuß an Toxinmolekeln in den sensiblen Wirtsgeweben. In den sensiblen Wirtsgeweben lassen sich

[1]) Der Schwellenwert für die Schädigung der Wasserpermeabilität der einzelnen Protoplasten liegt dagegen für die Fusarinsäure schon rund 1000 × tiefer, nämlich bei der Konzentration von $5 \cdot 10^{-8}$ molar (GÄUMANN und LOEFFLER, 1956).

ferner jene Toxinmolekel in intaktem Zustande nachweisen, die nicht mehr abgebunden werden können, weil schon sämtliche Haftpunkte besetzt sind. Ein Beispiel mag dies verdeutlichen.

Die Toxizität des Patulins, eines von verschiedenen *Aspergillus*- und *Penicillium*-Arten gebildeten Antibioticums, beruht u. a. darauf, daß es in den Wirtspflanzen lebenswichtige freie SH-Gruppen blockiert (Miescher, 1950). Das Patulin bindet also einerseits diese Gruppen ab und wird anderseits in gleichem Maße selbst abgebunden. Sein Schicksal im Innern der Tomatenpflanzen läßt sich deshalb von seiten des Wirtes und von seiten des Erregers betrachten.

Betrachtung von seiten des Wirtes. Wenn Tomatensprosse steigende Mengen von Patulin aufnehmen, so sinkt anfänglich in gleichem Maße ihr Spiegel an freien SH-Verbindungen, jedoch nur bis zum Niveau von rund 300 mg SH-Verbindungen (ausgedrückt als Cystein) je kg Lebendgewicht; dies entspricht ungefähr der Hälfte der anfänglich in den Sprossen vorhandenen SH-haltigen Verbindungen. Die übrigen SH-Gruppen sind offenbar dem Patulin nicht zugänglich und können deshalb von ihm nicht abgebunden werden. Mit der Blockierung von rund 300 mg SH-Verbindungen je kg Lebendgewicht hat somit das Patulin das Maximum der Schädigung erreicht, welche es in diesem Sektor auszuüben vermag. Größere Dosen Patulin bleiben infolgedessen wirkungslos.

Betrachtung von seiten des Toxines. Durch die Bindung mit den Sulfhydrylgruppen des Wirtes wird das Patulin fixiert und nach außen hin entgiftet; wenn deshalb Tomatensprosse steigende Mengen von Patulin aufnehmen (Abb. 15, Kurve p), so läßt sich in ihren Extrakten anfänglich mit dem *coli*-Test kein aktives Patulin nachweisen: das eingeführte Patulin ist „verschwunden", d. h. es ist abgebunden, desaktiviert worden (Abb. 15, Quote i). Erst bei Gaben über 300 mg Patulin je kg Lebendgewicht beginnt in den Extrakten aktives, d. h. freies Patulin aufzutreten; von da weg nimmt die Menge des freien Patulins mit der Menge des in die Tomatensprosse eingebrachten Patulins zu (Abb. 15, Quote a).

Mit rund 300 mg Patulin je kg Lebendgewicht ist deshalb die Schwelle erreicht, bis zu deren Bereich einerseits die Tomatenpflanze das eingebrachte Patulin abbindet bzw. bis zu deren Bereich anderseits das eingebrachte Patulin die freien SH-Gruppen der Wirtsgewebe zu blockieren vermag; dies entspricht ungefähr der Relation ein Molekel Patulin auf ein SH-Radikal.

Nur unterhalb dieses Absättigungsbereiches wirkt das eingebrachte Patulin im SH-Sektor pathogen; oberhalb dieses Bereiches bleibt es wirkungslos. Unterhalb dieses Absättigungsbereiches ist es jedoch als solches nicht nachweisbar. Der wirklich pathogene Anteil des eingebrachten Patulins „verschwindet" somit als solcher in der Tomatenpflanze, und nachweisbar ist nur jener Überschuß, der in der Pflanze keine Reaktionsmöglichkeiten mehr fand.

Ähnlich, nur nicht so einfach, weil das Molekül weniger stabil ist, liegen die Verhältnisse bei der Fusarinsäure (SANWAL, 1956). Wenn Tomatensprosse 120 mg markierte Fusarinsäure (d. i. synthetische Fusarinsäure, bei welcher in die Carboxylgruppe ein ^{14}C-Atom eingebaut wurde)

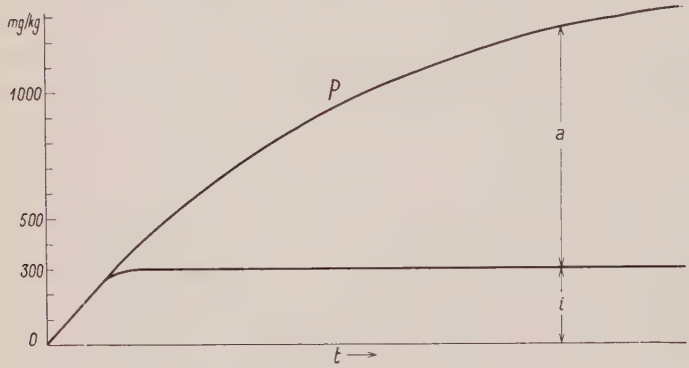


Abb. 15. Die Inaktivierung des Patulins im Zellsaft von Tomatenpflanzen. Abszisse: Aufnahmezeit *t* als Maßstab für die aufgenommene Toxinmenge *p*. Ordinate: Inaktiviertes, d. h. „verschwundenes" Patulin *i* bzw. aktiv vorhandenes, also überschüssiges Patulin *a* (Nach MIESCHER, 1950, aus GÄUMANN, 1951)

je kg Lebendgewicht aufnehmen, so sind in ihnen nach 48 Stunden nur noch 6,9 % als intakte Fusarinsäure nachweisbar; die übrigen 93,1 % sind „verschwunden", d. h. in den Wirtsgeweben irgendwie umgesetzt, fixiert oder gespalten worden.

Erhalten dagegen die Tomatenpflanzen die doppelte Dosis, nämlich 240 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht zugeführt, so ist in ihnen nach dem gleichen Zeitintervall der dreifache Anteil, nämlich 22,4 %, als intakte Fusarinsäure nachzuweisen. Offenbar wurde mit der größeren Dosis die Schwelle überschritten, oberhalb welcher ein Teil der eingebrachten Fusarinsäure mit dem Wirte nicht mehr reagiert und deshalb „intakt" bleibt.

Der wirklich pathogene Anteil der eingebrachten Fusarinsäure, der sich mit den Haftpunkten des Wirtes bindet und eben dadurch seine pathogene Wirkung entfaltet, bleibt also auch in diesem Falle als Fusarinsäure „verschwunden".

Vor der gleichen Schwierigkeit, ein parasitogenes Toxin in vivo unmittelbar nachzuweisen, steht ja auch die Humanmedizin. Es ist ihr noch nicht gelungen, z. B. das Diphtherie- oder das Tetanustoxin bei Spontaninfekten auf seinem Wanderungswege zu den zu schädigenden Nervengeweben oder gar in diesen selbst nachzuweisen; sie begnügt sich deshalb mit dem Indizienbeweis, daß die in vitro gewonnenen Toxine im Wirte dieselben Symptome auslösen, wie sie beim Spontaninfekt in vivo auftreten.

Die ideale Forderung, daß die chemische Identität eines in vitro und in vivo gebildeten Toxines lückenlos nachgewiesen werden sollte, besteht selbstverständlich trotz aller technischer Schwierigkeiten zu recht, und es ist denn auch durch zwei voneinander unabhängige Arbeitsgruppen der Nachweis erbracht worden, daß tatsächlich Fusarinsäure oder ein ihr sehr nahe verwandter Stoff im Gefolge der Infektion im Innern der Wirtspflanzen auftritt.

Lakshminarayanan und Subramanian (1955) konnten im Preßsaft aus Wurzeln, Stengeln und Blättern von Baumwollpflanzen, die mit dem *Fusarium vasinfectum* Atk. infiziert worden waren, zehn Tage nach der Infektion chromatographisch als Kupferkomplex einen Stoff feststellen, der mit Fusarinsäure identisch oder zum mindesten sehr nahe verwandt ist. Mit derselben Methode wiesen Kalyanasundaram und Venkata Ram (1956) nach, daß in jungen, mit *Fusarium vasinfectum* infizierten Baumwollpflanzen etwa zwei Wochen nach der Infektion mindestens 17 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht vorhanden sein müssen.

Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten vor und nach ihnen Kern und Sanwal (1954) und Kern und Kluepfel (1956) mit Hilfe der Isotopentechnik. Wird das *Fusarium lycopersici* mit Glykokoll ernährt, das in der Methylgruppe mit ^{14}C markiert ist, und wird der dergestalt „markierte" Pilz hernach in Tomatenpflanzen infiziert, so lassen sich in diesen Pflanzen schon nach 36 Stunden radioaktive Stoffwechselprodukte nachweisen; somit hat der Erreger schon während der ersten 36 Stunden nach der Infektion, d. h. schon zu Beginn der Inkubationszeit, ^{14}C-Atome in Stoffwechselprodukte eingebaut, die er hernach in die Leitungsbahnen des Wirtes übertreten ließ; und da anderseits im Verlaufe der Erkrankung die Radioaktivität in den stark erkrankten Blättern höher ist als in den schwach erkrankten Blättern, so darf vermutet werden, daß ein Teil dieser radioaktiven Stoffwechselprodukte für die Wirtspflanze giftig ist (Kern und Sanwal, 1954).

Die Versuche, in diesen mit markiertem Myzel infizierten Pflanzen die Fusarinsäure mit Hilfe der Isotopenverdünnungstechnik direkt nachzuweisen, schlugen jedoch wegen der zu geringen Radioaktivität der Extrakte fehl. Wohl aber gelang dieser Nachweis, wenn die Tomatenpflanzen mit gewöhnlichem Myzel des *Fusarium lycopersici* infiziert und hernach in eine Atmosphäre von radioaktivem Kohlendioxyd gebracht wurden; in diesem Falle nahm der Pilz auf dem Umweg über den Wirt genügend ^{14}C auf, daß in den infizierten Pflanzen zehn Tage nach der Infektion radioaktive Fusarinsäure (oder eine ihr sehr nahe verwandte Verbindung) festgestellt werden konnte (Kern und Kluepfel, 1956).

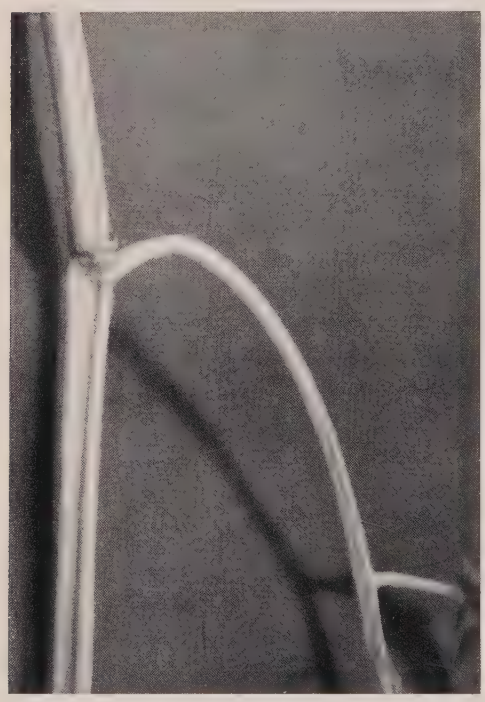
Damit ist bewiesen, daß Fusarinsäure nicht ein Artefakt aus künstlicher Kultur, sondern wirklich ein echtes, auch im Innern des Wirtes gebildetes „Vivotoxin" darstellt.

5. KAPITEL

Die grobsinnlichen Symptome der Fusarinsäureschädigung bei Tomatensprossen

Die hier zu besprechenden grobsinnlichen Symptome der Fusarinsäureschädigung sind, biologisch gesehen, aus zwei Gründen Artefakte. Einmal wirkt die Fusarinsäure unter natürlichen Verhältnissen nie für sich allein auf den Wirt ein, sondern stets in Gemeinschaft mit anderen Stoffwechselprodukten und Toxinen des Erregers (3. Kapitel). Sodann ver-

wenden wir, um bei abgeschnittenen Tomatensprossen innerhalb 48 Stunden eine drastische Ausprägung der Schädigungssymptome zu erhalten, unbiologisch hohe Toxinkonzentrationen (Größenordnung 10^{-3} molar); in vivo beginnt der Erreger mit einer hunderttausendmal geringeren Konzentration zu arbeiten, liegt doch die Konzentrationsschwelle für die Störung der Wasserpermeabilität der Protoplasten bei Konzentrationen von 10^{-9} und 10^{-8} molar.



Die hier geschilderten Symptome der Fusarinsäureschädigung bei Tomatensprossen werden deshalb bei Spontaninfekten kaum je in dieser Ausprägung auftreten. Ihr Sinn liegt vielmehr darin, daß sie unter extremen Voraussetzungen erkennen lassen, in welchen Geweben und unter welchen Bedingungen die Fusarinsäure und die Dehydrofusarinsäure ihre pathogene Wirksamkeit im Innern der Tomatensprosse entfalten.

Abb. 16. Symptome der Fusarinsäureschädigung am Stengel eines Tomatensprosses, 3/4 nat. Gr. (Nach GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952)

§ 1. Die Symptome der Fusarinsäureschädigung

Werden abgeschnittene Tomatensprosse in eine 10^{-3} molare Fusarinsäurelösung gestellt, so erscheinen die Schädigungssymptome zunächst an den Stengeln, bald darauf auch an den Blättern.

An den Stengeln werden zur Hauptsache die Rindengewebe über den Gefäßbündeln zerstört, und es bilden sich an den Stengeln hell graugrün verfärbte, eingesunkene Rillen, die allmählich auf die Blattstiele übergreifen (Abb. 16); dieses Symptom der Rillenbildung am Stengel und an den Blattstielen hat die Fusarinsäure mit dem im vorangehenden Kapitel erwähnten Patulin gemeinsam (z. B. GÄUMANN, 1951, Abb. 406 und 407). Ferner beginnen die Blattstiele sich nach unten zu biegen (Epinastie), ähnlich wie dies DIMOND und WAGGONER (1953) für Äthylen beschrieben haben. Die Leitungsbahnen in den Stengeln und Blattstielen werden dagegen nicht manifest geschädigt und nicht gebräunt.

Bei stärkerer Konzentration wird das gesamte Stengelgewebe aufgeweicht, so daß der Stengel fädigdünn wird (ähnlich Abb. 14). Dieses Symptom kann schon vier Stunden nach der Giftaufnahme erscheinen; 48 Stunden nach der Giftaufnahme ist die Symptomausprägung abgeschlossen.

Abb. 17. Wirkung der Dehydrofusarinsäure auf ein Fiederblättchen einer Tomatenpflanze, aufgenommen im Durchlicht. Vergr. rund 5 × (Nach Stoll, 1954)

Bei der Dehydrofusarinsäure sind die Wirkungen auf den Stengel und die Blattstiele der Tomatensprosse weniger ausgeprägt als bei der Fusarinsäure; sie bestehen meist in einer Schrumpfung der gesamten Gewebe (Stoll, 1954).

An den Blättern der Tomatensprosse erscheinen die grobsinnlichen Symptome der Fusarinsäurevergiftung etwas später als am Stengel. Sie zeigen sich vor allem in den Interkostalfeldern als kleine, graugrüne, eingesunkene, durchscheinende, meist unregelmäßig zackige, nekrotische Flecke, die stark an das Schädigungsbild des Lycomarasmins erinnern (z. B. Gäumann, 1951, Abb. 402). In selteneren Fällen treten Nekrosen auch unmittelbar längs der Blattnerven auf, selbst wenn die Interkostalfelder zunächst noch symptomlos sind (Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952, Abb. 4). Etwa 24 Stunden nach der Toxinaufnahme rollen sich die Fiederblättchen von beiden Seiten her gegen die Mitte hin ein und werden schlaff und turgorlos.

Bei der Dehydrofusarinsäure treten längs der Nerven, was bei der Fusarinsäure nur ausnahmsweise geschah, massive gelbe Verfärbungen (Abb. 17) auf; ferner zeigen sich Nekrosen an den Blatträndern und endlich, wie bei der Fusarinsäure, Nekrosen in den Interkostalfeldern und Erschlaffungssymptome der gesamten Pflanze. Zuweilen werden die Blattspreiten unregelmäßig gekräuselt.

Sowohl die Fusarinsäure als die Dehydrofusarinsäure besitzen demnach bei Tomatensprossen eine gewebespezifische Wirkung. Beide

schädigen in den Stengeln nicht die Leitungsbahnen in sichtbarer Weise, sondern (insbesondere die Fusarinsäure) nur die Rindengewebe; und beide schädigen in den Blättern in charakteristischer Weise bloß bestimmte Partien der Grundgewebe, so daß ihr Schädigungsbild durch einen geübten Beobachter von demjenigen anderer parasitogener Toxine unterschieden werden kann.

§ 2. Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Ausprägung der Schädigungssymptome

In welchem Ausmaß nehmen die an Tomatensprossen ausgelösten Schädigungen bei steigenden Fusarinsäuregaben zu? Wir verwenden für die Bewertung der Schädigungsintensität das folgende Bonitierungsschema:

a) Stengel

Stufe 1. In der Nähe der Schnittstelle aufgeweicht und leicht eingeschnürt.

Stufe 2. Die untere Partie des Stengels (von der Schnittstelle bis zum Ansatz des untersten Blattes) mehr oder weniger weich, zusammengefallen, runzelig. Blattstiele unversehrt.

Stufe 3. Schädigungen im Ausmaß der Stufe 2 auch an den Blattstielen; diese sind also nur in ihrer unteren Hälfte geschädigt.

Stufe 4. Stengel und Blattstiele zu mehr als der Hälfte ihrer Länge aufgeweicht, meist zusammengefallen, am Eintrocknen.

b) Blätter

Stufe 1. Zerstreute, helle, durchscheinende, unregelmäßige Flecke auf den Spreiten.

Stufe 2. Flecke zahlreicher, oft ineinander übergehend. Blattränder angetrocknet und leicht eingerollt.

Stufe 3. Flecke wie bei Stufe 2 oder stärker. Ränder stark eingerollt. Blatt schlaff.

Stufe 4. Ganzes Blatt vollständig welk, dunkelgrün verfärbt, eingerollt.

Tabelle 5

Der Einfluß der verabreichten Toxinmenge auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen
Konzentration der verabreichten Toxinlösung $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar.
Reaktion der Toxinlösung pH 4,3.
(Nach GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952)

Verabreichte Toxinmenge in mg je kg Frischgewicht	Durchschnittliche Schädigung der	
	Stengel	Blätter
75	1,1	0,5
150	2,0	1,5
225	2,6	1,7
300	3,0	2,8

Tabelle 5 zeigt für die Schädigungen sowohl des Stengels als der Blätter den üblichen asymptotischen Verlauf. Die „dosis minima" (bei der eine durchschnittliche Schädigung von 1,5 ausgelöst wird) liegt bei der Toxin-

gabe von 150 mg je kg Lebendgewicht, die subletale Dosis (Schädigungsstufe 3) bei der Toxingabe von 300 mg je kg Lebendgewicht.

Der Sprung der Blattsymptome von 1,7 auf 2,8, wenn die verabreichte Toxinmenge von 225 auf 300 mg je kg Lebendgewicht gesteigert wird, dürfte nicht ausschließlich auf eine unmittelbare Toxinwirkung, sondern teilweise auf die Schädigung des Stengels zurückgehen. Wenn nämlich bei den Tomatensprossen der Stengel stark toxigen geschädigt wird (Intensität oberhalb der Stufe 2), so bleibt er funktionell zurück oder scheidet aus; in derartigen Fällen setzt sich die Schädigung der Blätter aus zwei Komponenten zusammen, einerseits aus der unmittelbaren Schädigung der Blätter durch das Toxin selbst, und andererseits aus der mittelbaren Schädigung der Blätter infolge der funktionellen Störung des Stengels.

§ 3. Der Einfluß des Dissoziationsgrades der Fusarinsäuremolekel auf ihre pathogene Wirksamkeit

Welchen Einfluß besitzt die Reaktion des geweblichen Substrates, in welchem die Fusarinsäuremolekel in vivo wirken müssen, auf ihre Toxizität? Mit anderen Worten: Kann die gewebespezifische Wirkung der Fusarinsäure, auf die wir früher im 3. Kapitel und soeben in § 1 hingewiesen haben, zu einem Teil durch die unterschiedliche Azidität dieser Gewebe erklärt werden?

Tabelle 6

Der Einfluß der Reaktion der Toxinlösung auf die Symptomausprägung der Fusarinsäure bei jungen Tomatensprossen
(Mittelwerte und Streuungen aus je 15 Versuchspflanzen)
Verabreichte Toxinmenge 150 mg je kg Lebendgewicht in der Konzentration von $2{,}5 \cdot 10^{-3}$ molar
(Nach Gäumann, Naef-Roth und Kobel, 1952)

Reaktion der Toxinlösung	Durchschnittliche Schädigung	
	Stengel	Blätter
4,3	$1{,}73 \pm 0{,}60$	$0{,}93 \pm 0{,}38$
5,0	$1{,}33 \pm 0{,}49$	$0{,}65 \pm 0{,}48$
5,6	$1{,}0 \pm 0{,}37$	$0{,}77 \pm 0{,}53$
6,2	0	$1{,}37 \pm 0{,}44$
6,8	0	$1{,}63 \pm 0{,}68$

Native Fusarinsäure hat ein pH von 4,3. In Tabelle 6 wurden die Fusarinsäurelösungen auf das in der ersten Spalte genannte pH eingestellt, in der Annahme, daß sie dieses pH auch im Innern der wenig gepufferten Gefäße und in den Zellwänden der Grund- und Rindengewebe einigermaßen durchsetzen werden. Hernach wurden die Versuchssprosse in diese Toxin-

lösungen gestellt, bis sie die dosis minima (150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht) aufgenommen hatten. Dann wurden sie in Leitungswasser zurückgebracht.

In den Rindengeweben der Stengel verursacht die native Fusarinsäure (pH 4,3) die größten Schädigungen. Mit wachsender Alkalinität nimmt die Schädigungsintensität ab, um bei etwa pH 6,0 gänzlich zu verschwinden. Bei pH 6,2 und weiter gegen den alkalischen Bereich hin verursacht Fusarinsäure in der hier verabreichten Konzentration keine Schädigungen der Rindengewebe der Tomatensprosse mehr.

Die Blätter der Tomatensprosse sprechen dagegen weniger stark auf die pH-Änderungen der Toxinlösung an. Von pH 4,3 bis pH 5,6 ist in Tabelle 6 überhaupt keine statistisch gesicherte Verschiebung der Symptomausprägung zu erkennen. Erst von pH 6,2 weg nimmt die Schädigung der Tomatenblätter deutlich zu; die Schädigungsintensität stieg in anderen Versuchen bei pH 7,6 sogar auf durchschnittlich 2,6. Der Umschlagspunkt dürfte auch hier bei ungefähr pH 6,0 liegen.

Wenn somit den Tomatensprossen nur gerade die dosis minima an Fusarinsäure verabreicht wird (eben 150 mg je kg Lebendgewicht), so verläuft die pH-gebundene Symptomausprägung in den Stengeln und den Blättern gegensinnig: im Rindengewebe der Stengel verschwinden die Schädigungssymptome, wenn die Reaktion der Toxinlösung von pH 6,0 weg gegen den alkalischen Bereich hin ansteigt; in den Blättern nehmen sie dagegen von pH 6,0 weg an Intensität zu.

Wir legen uns den Sachverhalt folgendermaßen zurecht (GÄUMANN, NAEF-ROTH und KOBEL, 1952). Fusarinsäure ist eine schwache, einbasische Säure, noch schwächer als Essigsäure; die Dissoziationskonstante der ersteren beträgt 10^{-6}, diejenige der letzteren $1{,}8 \cdot 10^{-5}$. Der Dissoziationsgrad der Fusarinsäure läßt sich als Funktion des pH folgendermaßen berechnen:

pH	Dissoziationsgrad %
4,3	zirka 2
5,6	zirka 30
6,0	50
6,8	zirka 86
8,7	100

Im allgemeinen haben negativ geladene Teilchen (Säure-Ionen) Mühe, die Plasmahaut zu passieren, während neutralen oder nahezu neutralen Teilchen wie den Fusarinsäuremolekeln wenig Widerstand entgegengesetzt wird. Der Entscheid, in welchem Ausmaß die Fusarinsäureteilchen aus den Zellwänden durch die Plasmahaut hindurch in das Zellinnere als dem Ort ihrer spezifischen Wirksamkeit gelangen, hängt deshalb von ihrer Permeierfähigkeit ab, und diese wird ihrerseits durch die Dissoziationsverhältnisse gesteuert.

Bei einer Reaktion unterhalb pH 6,0, also in einem verhältnismäßig schwach dissoziierten Zustande, wandern verhältnismäßig viele Fusarinsäuremolekel (weil nicht dissoziiert) aus den Zellwänden durch die Plasmahaut in das Zellinnere. Deshalb vermögen sie auch in den Grundgewebe- und Rindenzellen des Stengels, die ja mehr oder weniger abseits vom Transpirationsstrom liegen, die kritische Konzentrationsschwelle zu überschreiten und manifeste Schädigungen (Rillenbildung usw.) auszulösen.

Durch diesen Fusarinsäurekonsum der Stengelgewebe wird jedoch ein Teil des zur Verfügung stehenden Toxines, das sonst den Blättern zugekommen wäre, verbraucht. Wir verabreichen ja den Versuchsprossen mit den 150 mg je kg Lebendgewicht nur ungefähr die dosis minima; die Toxinmenge, die notwendig ist, um innerhalb 48 Stunden bei Tomatensprossen drastische Schädigungssymptome auszulösen, befindet sich deshalb gewissermaßen im Minimum; infolgedessen konkurrieren der Fusarinsäure-„Bedarf" des Stengels und der Blätter: die Fusarinsäure, die in den Grundgewebe- und Rindenzellen des Stengels verbraucht wurde, bleibt dem Blattwerk entzogen; deshalb muß in den Blättern, falls Stengelsymptome auftreten, eine gewisse Depression der Symptome einsetzen. Dies ist in Tabelle 6 tatsächlich der Fall.

Verabreicht man dagegen den Tomatensprossen einen Überschuß an Fusarinsäure, z. B. 225 mg je kg Lebendgewicht, so unterbleibt die gegenseitige Konkurrenz von Stengel und Blättern; die Blattsymptome werden dementsprechend durch das Auftreten oder Verschwinden der Stengelsymptome nicht beeinflußt, sondern zeigen sich im gesamten pH-Bereich in gleicher Heftigkeit.

Diese Konkurrenz zwischen dem Fusarinsäurekonsum des Stengels und dem der Blätter spielt zweifelsohne in vivo, wo ja die zur Verfügung stehende Fusarinsäuremenge weit kleiner ist als in unseren Modellversuchen, eine wichtige Rolle.

Bei Reaktionen oberhalb pH 6,0, also in einem stark dissoziierten Zustande (denn weit über 50 % der Fusarinsäuremolekel sind nunmehr dissoziiert), gelingt die unmittelbare Penetration von den Zellwänden her durch die Plasmahaut in das Zellinnere nur verhältnismäßig wenig Fusarinsäureteilchen; weder in den Zellen des Stengels noch in denen der Blätter erreicht deshalb die Fusarinsäure-Konzentration ohne weiteres die kritische Grenze. Doch greift nunmehr in den Blattgeweben die Transpiration ein; sie läßt einen Teil des Lösungswassers wegverdunsten; dadurch wird die Fusarinsäurelösung in den Zellwänden der Blätter „künstlich" angereichert. Mit der Zunahme der Konzentration geht jedoch bei einer schwachen Säure wie der Fusarinsäure die Dissoziation rasch zurück, und es entstehen wieder neutrale Teilchen, die nunmehr durch die Plasmahaut in das Zellinnere dringen und dort den Wirt schädigen.

In den Stengeln mit ihrer geringen Transpiration findet dagegen diese „künstliche" Anreicherung der Toxinlösung nicht statt; deshalb wird in den Zellwänden der Stengelgewebe die starke Dissoziierung der Toxinlösung nicht rückgängig gemacht. Dementsprechend fällt es den Fusarinsäureteilchen (weil bei einem pH oberhalb 6,0 zu stark dissoziiert) in den Stengelgeweben nach wie vor schwer, aus den Zellwänden durch die Plasmahaut in das Zellinnere zu gelangen; die kritische Giftkonzentration wird infolgedessen in den Protoplasten der Stengelgewebe nicht erreicht und es kommt in den Stengeln nicht zur Ausprägung manifester Schädigungssymptome.

Da wegen dieses geringeren Fusarinsäurekonsums der Stengelgewebe nur verhältnismäßig wenig Toxin verbraucht wird, so steht für das Blattwerk ein entsprechend höherer Anteil zur Verfügung; dadurch wird verständlich, daß in Tabelle 6 in dem pH-Bereich, in welchem keine Stengelsymptome auftreten, die Schädigungen des Blattwerkes deutlich größer sind.

Über die pH-Verhältnisse im Innern junger Tomatensprosse liegen noch keine genauen Untersuchungen vor, wohl aber für *Solanum Dulcamara* und *Solanum tuberosum* (SMALL, 1955). Wir sind deshalb auf Analogieschlüsse angewiesen.

Bei diesen zwei *Solanum*-Arten beträgt das pH im Xylem 4,0 bis 4,4, im zentralen Mark 5,9, in der Endodermis und den Rindengeweben 5,6 bis 5,9, in der Epidermis 4,8 bis 5,2 (zuweilen 5,6), in den Haaren 4,8 bis 5,2 (zuweilen oberhalb 6,2) und in den Geweben der Kartoffelknollen 6,2. Diese Zahlen dürften näherungsweise auch für junge Tomatensprosse gelten. Die Permeierfähigkeit der Fusarinsäure wird deshalb in den Gefäßen und den Grund- und Rindengeweben der Tomatensprosse deutlich verschieden sein.

Im Innern der Gefäße mit ihrem pH von rund 4,0 bis 4,4 vermag die Fusarinsäure sozusagen undissoziiert zu wandern; dies wird ihr auch durch den Umstand erleichtert, daß die Elemente der Xylemwände negativ geladen sind und deshalb das Aufsteigen der Fusarinsäuremolekel eher noch beschleunigen (CHARLES, 1953, für das ebenfalls saure Penicillin). Die Fusarinsäure wird dementsprechend auch ungehindert in die Zellen des Gefäßbündelparenchyms eindringen. Sie findet also wahrscheinlich in den Gefäßen und im Gefäßbündelparenchym ihre optimalen Wirkungsbedingungen und löst dort zellularpathologisch die im Rahmen ihrer Möglichkeiten maximalen Schädigungen aus, obschon diese Schädigungen visuell für uns nicht ohne weiteres erkennbar sind.

Diese Koinzidenz der optimalen pH-Ansprüche der Fusarinsäure einerseits und der tatsächlichen pH-Verhältnisse im Xylem anderseits dürfte für die Pathogenese der infektiösen Tomatenwelke entscheidend sein; denn die Fusarinsäure ist im zeitlichen Ablauf der Erkrankung neben dem Aethylen das erste Toxin, das im Wirt die Schwelle der pathogenen Wirksamkeit überschreitet und dann den übrigen Schadstoffen (Toxinen und Enzymen) den Weg bereitet. Es ist deshalb wohl kein Zufall, daß sie gerade in den

Gefäßbündeln ihre optimalen Wirkungsbedingungen vorfindet (auch wenn sie dort visuell keine Schädigungen auslöst), ist doch die infektiöse Tomatenwelke primär eine Gefäßbündelkrankheit.

In den Grund- bzw. Rindengeweben der Tomatensprosse mit ihrem pH von nahezu 6,0 ist dagegen fast die Hälfte der Fusarinsäuremolekel dissoziiert und deshalb nur noch schwer permeierfähig. Aus diesem Grunde wird in den Rindengeweben der Stengel die kritische Schwelle für die Auslösung manifester Schädigungen bei spontanen Infektionen wohl nur selten überschritten; denn nach Tabelle 6 treten selbst bei einer Dosis von 150 mg Fusarinsäure je kg Lebendgewicht, wie sie bei spontanen Infektionen wohl nur selten produziert wird, bei pH 6,2 an den Stengeln noch keine visuellen Schädigungen auf. In den Grundgeweben der Blätter führt dagegen die Transpiration zu einer „künstlichen" Anreicherung der Fusarinsäurelösung; der Dissoziationsgrad der Fusarinsäuremolekel nimmt deshalb rapid ab, wodurch hinwieder den Fusarinsäuremolekeln das Eindringen aus den Zellwänden in das Zellinnere erleichtert wird. Auf diese Weise mag es geschehen, daß im Verlauf der natürlichen Erkrankung der Tomatensprosse bei einem bestimmten Fusarinsäurespiegel wohl die Grundgewebe der Blätter, nicht aber die Rindengewebe der Stengel visuelle Schädigungen zeigen.

Selbstverständlich werden mit diesen pH-Betrachtungen nur einige Voraussetzungen der pathogenen Wirkung der Fusarinsäure erfaßt. Die Dinge liegen im Innern des Wirtes unendlich komplizierter; so ist die Störung der Atmung durch Fusarinsäure bei jeder Konzentration pH-abhängig (Reusser und Naef-Roth, 1956), die Störung der Wasserpermeabilität der Protoplasten dagegen nur bei Konzentrationen oberhalb 10^{-5} molar (Bachmann, 1956). Wir hoffen, in einer späteren Arbeit über die Mechanismen der Fusarinsäureschädigung auf diese Fragen zurückzukommen.

Zusammenfassung

Fusarinsäure, eine Pyridincarbonsäure, wird nicht nur von spezifischen Welkeerregern wie dem *Fusarium lycopersici* und dem *Fusarium vasinfectum* gebildet, sondern insgesamt von sechs Pilzen aus der Familie der Hypocreaceen, die parasitologisch völlig unterschiedlichen Erregergruppen angehören. Mindestens zwei von ihnen bilden neben der Fusarinsäure auch die um zwei Wasserstoffatome ärmere Dehydrofusarinsäure; bei Kultur in vitro tritt die gesättigte Fusarinsäure zeitlich vor der ungesättigten Dehydrofusarinsäure auf.

Da keiner dieser Pilze nur ein Toxin bildet, so muß die Fusarinsäure bei den verschiedenen Krankheitserregern mit andersartigen und anders wirkenden Toxinen und Begleitstoffen des betreffenden Erregers zusammenarbeiten, so beim *Fusarium lycopersici* mit deren mindestens fünf, bei der *Gibberella Fujikuroi* mit mindestens drei.

Die Produktion von Fusarinsäure im Innern des Wirtes wurde bis jetzt für das *Fusarium lycopersici* in Tomatenpflanzen und für das *Fusarium vasinfectum* in Baumwollpflanzen nachgewiesen, und zwar in Mengen bis zu 17 mg je kg Lebendgewicht.

Literaturverzeichnis

AHMET, H., 1933: Untersuchungen über Tracheomykosen. Phytopath. Z. **6**, 49—101.

BACHMANN, E., 1956: Der Einfluß von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität von pflanzlichen Protoplasten. Phytopath. Z. **27**, 255—288.

BARTON, L. V., 1956: Growth response of physiological dwarfs of *Malus Arnoldiana* Sarg. to gibberellic acid. Contrib. Boyce Thompson Instit., **18**, 311—317.

BORROW, A., BRIAN, P. W., CHESTER, V. E., CURTIS, P. J., HEMMING, H. G., HENEHAN, C., JEFFREYS, E. G., LLOYD, P. B., NIXON, I. S., NORRIS, G. L. F., and RADLEY, M., 1955: Gibberellic acid, a metabolic product of the fungus *Gibberella Fujikuroi:* some observations on its production and isolation. J. of the science of food and agric. **6**, 340—348.

BRIAN, P. W., ELSON, G. W., HEMMING, H. G. and RADLEY, M., 1954: The plant-growth-promoting properties of gibberellic acid, a metabolic product of the fungus *Gibberella Fujikuroi.* J. sc. food and agric. **5**, 602—612.

— —, and HEMMING, H. G., 1955: The effect of gibberellic acid on shoot growth of pea seedlings. Physiol. plant. **8**, 669—681.

— —, — —, and RADLEY, M., 1955: A physiological comparison of gibberellic acid with some auxins. Physiol. plant. **8**, 899—912.

BÜNSOW, R. und HARDER, R., 1956: Blütenbildung von *Bryophyllum* durch Gibberellin. Naturwiss. **43**, 479—480.

CHARLES, A., 1953: Uptake of dyes into cut leaves. Nature **171**, 435—436.

CHESTERS, C. G. C. and ROLINSON, G. N., 1951: Trace elements and streptomycin production. J. gen. microbiol. **5**, 559—565.

CLAUSON-KAAS, N., PLATTNER, PL. A. und GÄUMANN, E., 1944: Über ein welkeerzeugendes Stoffwechselprodukt von *Fusarium lycopersici* Sacc. Ber. schweiz. bot. Ges. **54**, 523—528.

CLAYTON, E. E., 1923: The relation of soil moisture to the Fusarium wilt of the tomato. Amer. J. Bot. **10**, 133—147.

COOK, A. H., COX, S. F. and FARMER, T. H., 1948: Antibiotics produced by fungi and a new phenomenon in optical resolution. Nature **162**, 4106, S. 61.

— —, — —, — —, and LACEY, M. S., 1947: Production of antibiotics by Fusaria. Nature **160**, 31—32.

CROSS, B. E., 1954: Gibberellic acid I. Journ. chem. soc. 4670—4676.

CROWDY, S. H., GARDNER, D., GROVE, J. F. and PRAMER, D., 1955: The translocation of antibiotics in higher plants. I. Isolation of griseofulvin and chloramphenicol from plant tissue. J. exp. Bot. **6**, 371—383.

DAVIS, D., 1954: The use of intergeneric grafts to demonstrate toxins in the Fusarium wilt disease of tomato. Amer. J. Bot. **41**, 395—398.

— — and DIMOND, A. E., 1954: The source and role of phenols in Fusarium wilt symptoms. Phytopathology **44**, 485—486.

Davis, D., Waggoner, P. E. and Dimond, A. E., 1953: Conjugated phenols in the Fusarium wilt syndrome. Nature **172**, S. 959.

Dimond, A. E. and Waggoner, P. E., 1953: The cause of epinastic symptoms in Fusarium wilt of tomatoes. Phytopathology **43**, 663—669.

Ettlinger, L., 1946: Zur kulturellen Gewinnung von Penicillin. Ber. schweiz. bot. Ges. **56**, 681—695.

Flück, V. und Richle, K. H., 1955: Papierchromatographische Untersuchungen über den Aminosäuren-Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **24**, 455 bis 461.

Freeman, V. J., 1951: Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*. J. Bact. **61**, 675—688.

Gäumann, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. 2. Aufl. Birkhäuser, Basel, 681 S.

— —, 1954: Toxins and plant diseases. Endeavour **13**, Nr. 52, 198—204.

— — und Loeffler, W., 1956: Über die Wirkung von Fusarinsäure auf die Wasserpermeabilität der Markzellen von Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **28**, 319—328.

— —, Naef-Roth, St. und Ettlinger, L., 1950: Zur Gewinnung von Enniatinen aus dem Myzel verschiedener Fusarien. Phytopath. Z. **16**, 289—299.

— —, — — und Kobel, H., 1952: Über Fusarinsäure, ein zweites Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 1—38.

— —, — — et — —, 1952: Les synergismes chez les toxines de *Fusarium lycopersici* Sacc. C. R. Ac. sc. Paris **234**, 276—278.

— —, — — und Miescher, G., 1950: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytopath. Z. **16**, 257—288.

— —, — —, Reusser, P. und Ammann, A., 1952: Über den Einfluß einiger Welketoxine und Antibiotica auf die osmotischen Eigenschaften pflanzlicher Zellen. Phytopath. Z. **19**, 160—220.

— —, Roth, St., Ettlinger, L., Plattner, Pl. A. und Nager, U., 1947: Enniatin, ein neues, gegen Mykobakterien wirksames Antibioticum. Experientia **3**, 202.

— —, Stoll, Ch. und Kern, H., 1953: Über Vasinfuscarin, ein drittes Welketoxin des *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **20**, 245—247.

Gothoskar, S. S., Scheffer, R. P., Stahmann, M. A. and Walker, J. C., 1955: Further studies on the nature of *Fusarium* resistance in tomato. Phytopathology **45**, 303—307.

— —, — —, Walker, J. C. and Stahmann, M. A., 1953: The role of pectic enzymes in Fusarium wilt of tomato. Phytopathology **43**, 535—536.

— —, — —, — —, — —, 1955: The role of enzymes in the development of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology **45**, 381—387.

Gottlieb, D., 1943: The presence of a toxin in tomato wilt. Phytopathology **33**, 126—135.

— —, 1944: The mechanism of wilting caused by *Fusarium bulbigenum* var. *lycopersici*. Phytopathology **34**, 41—59.

Groman, N. B., 1953: The relation of bacteriophage to the change of *Corynebacterium diphtheriae* from avirulence to virulence. Science **117**, 297—299.

Hardegger, E. und Nikles, E., 1956: Fusarinsäure- (carboxyl —^{14}C) und quaternäre Derivate der Fusarinsäure. Helv. chim. Acta **39**, 223—229.

— — und — —, 1956: Untersuchungen in der Pyridin-Reihe; ein neuer Weg zur Fusarinsäure. Helv. chim. Acta **39**, 505—513.

Hayashi, T., 1940: Effect of Gibberellin on the activity of amylase in germinated cereal grains. J. agr. chem. soc. Japan, **16**, 531—538; zit. nach Chem. Abstr. **35**, 1941, 772.

HAYASHI, T., TAKIJIMA, Y. and MURAKAMI, Y., 1953: The physiological action of Gibberellin IV. J. Agr. chem. soc. Japan, **27**, 672—675.

HEINZE, P. H. and ANDRUS, C. F., 1945: Apparent localization of Fusarium wilt resistance in the Pan America Tomato. Amer. J. Bot. **32**, 62—66.

IRVING, G. W., 1947: The significance of tomatin in plant and animal disease. J. Washington Acad. sc. **37**, 293—296.

— —, FONTAINE, T. D. and DOOLITTLE, S. P., 1945: Lycopersicin, a fungostatic agent from the tomato plant. Science **102**, 9—11.

— —, — —, — —, 1946: Partial antibiotic spectrum of tomatin, an antibiotic agent from the tomato plant. J. Bact. **52**, 601—607.

KALYANASUNDARAM, R. and SARASWATHI-DEVI, L., 1955: Zinc in the metabolism of *Fusarium vasinfectum* Atk. Nature **175**, 945.

— — and VENKATA RAM, C. S., 1956: Production and systemic translocation of fusaric acid in Fusarium infected cotton plants. J. Indian bot. soc. **35**, 7—10.

KERN, H., 1952: Über die Beziehungen zwischen dem Alkaloidgehalt verschiedener Tomatensorten und ihrer Widerstandsfähigkeit gegen das *Fusarium lycopersici* Sacc. Phytopath. Z. **19**, 351—382.

— — und KLUEPFEL, D., 1956: Die Bildung von Fusarinsäure durch *Fusarium lycopersici* in vivo. Experientia **12**, 181—182.

— — und SANWAL, B. D., 1954: Untersuchungen über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* mit Hilfe von radioaktivem Kohlenstoff. Phytopath. Z. **22**, 449—453.

KOBEL, FR., 1951: Untersuchungen über toxische Stoffwechselprodukte von *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr. Phytopath. Z. **18**, 157—195.

LAKSHMINARAYANAN, K. and SUBRAMANIAN, D., 1955: Is fusaric acid a vivo-toxin? Nature **176**, 697—698.

LANDOLT, E., 1952: Über Welkestoffbildung bei *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.) Sacc. Phytopath. Z. **19**, 126—128.

LANG, A., 1956: Stem elongation in a rosette plant, induced by gibberellic acid. Naturwiss. **43**, 257—258.

— —, 1956: Induction of flower formation in biennial *Hyoscyamus* by treatment with Gibberellin. l. c., 284—285.

LONA, F., 1956: L'azione dell'acido Gibberellico sull'accresciamento caulinare di talune piante erbacee in condizioni esterne controllate. Nuovo giornale botan. Italiano **63**, 61—76.

— — und BOCCHI, A., 1956: Caratteristiche d'accrescimento e sviluppo di alcune razze invernali di cereali trattate con acido gibberellico. Rivista internazionale di Agricoltura, Juli 1956, 44—46.

— — und — —, 1956: La distenzione caulinare nella canapa incrementata dall'acido gibberellico. l. c., August 1956, 58—60.

LUZ, G., 1934: Über den Stoffwechsel von *Fusarium lycopersici* und *Fusarium lini*. Phytopath. Z. **7**, 585—638.

MIESCHER, G., 1950: Über die Wirkungsweise von Patulin auf höhere Pflanzen, insbesondere auf *Solanum Lycopersicum* L. Phytopath. Z. **16**, 369—397.

NAGER, U., 1948: Über die Chemie der Enniatine. Promotionsarbeit E. T. H. Zürich, S. 42.

NAKASHIMA, T., 1955: Studies on fusaric acid and analogous compounds I. Synthesis of 3-sec-Butylpyridine. J. Pharmaceut. soc. Japan, **75**, 1010—1011.

PLATTNER, PL. A., KELLER, W. und BOLLER, A., 1954: Konstitution und Synthese der Fusarinsäure. Helv. chim. Acta **37**, 1379—1392.

Plattner, Pl. und Nager, U., 1947: Über die Chemie des Enniatins. Experientia **3**, 325—326.

— — und — —, 1948: Über die Konstitution von Enniatin B. Helv. chim. Acta **31**, 665—671.

— — und — —, 1948: Über die Konstitution von Enniatin A. Helv. chim. Acta **31**, 2192—2203.

— — und — —, 1948: Analyse und Charakterisierung der Enniatine. Über das Verhalten von N-Methyl-aminosäuren im Papierchromatogramm. Helv. chim. Acta **31**, 2203 bis 2209.

— —, — — und Boller, A., 1948: Welkestoffe und Antibiotika VII. Über die Isolierung neuartiger Antibiotika aus Fusarien. Helv. chim. Acta **31**, 594—602.

Prasanna Varma, R., 1954: Soil conditions and root diseases. X. The tomato wilt Fusaria. J. Indian bot. soc. **33**, 43—72.

Reusser, P. und Naef-Roth, St., 1956: Über den Einfluß der Fusarinsäure auf den Gaswechsel von *Saccharomyces cerevisiae* Hans. Phytopath. Z. **26**, 273—296.

Sanwal, B. D., 1956: Investigations on the metabolism of *Fusarium lycopersici* Sacc. with the aid of radioactive carbon. Phytopath. Z. **25**, 333—384.

Scheffer, R. P. and Walker, J. C., 1953: The physiology of Fusarium wilt of tomato. Phytopathology **43**, 116—125.

— — and — —, 1954: Distribution and nature of Fusarium resistance in the tomato plant. Phytopathology **44**, 94—101.

Sherwood, E. C., 1923: Hydrogen ion concentration as related to the Fusarium wilt of tomato seedlings. Amer. J. Bot. **10**, 537—553.

Small, J., 1955: The pH of plant cells. Protoplasmatologia II B 2 c, Springer, Wien, 116 S.

Stoll, Chr., 1954: Über Stoffwechsel und biologisch wirksame Stoffe von *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll., dem Erreger der Bakanaëkrankheit. Phytopath. Z. **22**, 233—274.

— — und Renz, J., 1957: Über den Fusarinsäure- und Dehydrofusarinsäurestoffwechsel von *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Woll. Phytopath. Z. (im Druck).

— —, — — und Gäumann, E., 1956: Über die Bildung verschiedener Fusarinsäuren durch das *Fusarium lycopersici* Sacc. in saprophytischer Kultur. Phytopath. Z. (im Druck).

Sumiki, Y., 1952: The physiological action of Gibberellin III. J. agr. chem. soc. Japan, **26**, 393—397.

Waggoner, P. E. and Dimond, A. E., 1955: Production and role of extracellular pectic enzymes of *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. Phytopathology **45**, 79—87.

White, R. P., 1927: Studies on tomato wilt caused by *Fusarium lycopersici* Sacc. J. agr. Res. **34**, 197—239.

Winstead, N. N. and Walker, J. C., 1954: Production of vascular browning by metabolites from several pathogens. Phytopathology **44**, 153—158.

Yabuta, T., Kambe, K. and Hayashi, T., 1934: Biochemistry of the bakanaë-fungus. I. Fusarinic acid, a new product of the bakanaë-fungus. J. agr. chem. soc. Japan, **10**, 1059—1068, zit. nach Chem. Abstr. **29**, 1937, S. 1132.

— —, Sumiki, Y., Murayama, N. and Suzuki, K., 1941: The effects of gibberellin on the components of soybean malt. J. agr. chem. soc. Japan, **17**, 527—528; zit. nach Chem. Abstr. **44**, 1950, 10814.

— —, — —, Fukunaga, K. and Horiuchi, M., 1951: Chemical composition of rice seedlings treated with gibberellin. J. agr. chem. soc. Japan, **24**, 396—397; zit. nach Chem. Abstr. **46**, 1952, 5143.

Yasue, Y., 1949: Studies on the antibacterial action of fusaric acid, a metabolic product of the causative mould of the „Bakanaë" disease of rice plants. J. Antibiotics **2**, 262—264.

ZÄHNER, H., 1954: Die Bestimmung der Fusarinsäure mit Hilfe der Papierchromatographie. Phytopath. Z. **22**, 227—228.

— —, 1955: Über den Einfluß der Ernährung auf die Toxinempfindlichkeit von Tomatenpflanzen. Phytopath. Z. **23**, 49—88.

— —, 1955: Welketoxine. In: LINSKENS, H. F., Papierchromatographie in der Botanik. Springer-Verlag, 194—197.

ZEEVAART, J. A. D., 1955: Amino acids as a carbon source for *Fusarium oxysporum* in the vessels of lupine plants. Tijdskr. over plantenziekt. **61**, 76—78.

ZEHNDER, K., 1951: Über die Konstitution der N-Methyl-aminosäuren aus Enniatin A und B. Promotionsarbeit E. T. H. Zürich, Nr. 1983, 1—96.

Aus dem Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Universität Göttingen
Direktor: Prof. Dr. W. H. Fuchs

Untersuchungen zur Biochemie von Weizenkeimpflanzen nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici*, Erikss. und Henn., ph. R. 126 A[1])

Von

R. Rohringer

Obligat-biotrophe Parasiten, deren Kultur auf künstlichen Medien nicht gelungen ist, entziehen sich der direkten Beobachtung ihrer stoffwechselphysiologischen Leistung. Ihre Einwirkung auf Wirtspflanzen ist daher im wesentlichen auf die Gegenüberstellung der Verhältnisse in gesunden und infizierten Pflanzen beschränkt. Diese Schwierigkeiten treffen im besonderen Maß für das Studium der Getreideroste zu. Zahlreiche Ergebnisse, besonders aber das Vorhandensein vieler physiologischer Rassen, deuten darauf hin, daß das Wirt-Parasit-Verhältnis dieser Rostkrankheiten ganz besonders eng gestaltet ist. Das physiologische Geschehen beider Organismen ist wahrscheinlich tiefgreifend und an den verschiedensten Stellen im Stoffwechsel miteinander verknüpft (vergl. Gäumann, 1951).

Bei den bisher vorliegenden Untersuchungen standen sekundäre Pflanzenstoffe (Polyphenolderivate), der Kohlenhydratstoffwechsel und der Proteinstoffwechsel im Vordergrund des Interesses (Roemer, Fuchs und Isenbeck, 1938). Da in der vorliegenden Arbeit nur über unsere Untersuchungen an Eiweißkörpern und ihren Bausteinen berichtet werden soll, sei hier nur auf die wichtigen Arbeiten der Schule Gassner (Gassner und Hassebrauk, 1931; Gassner und Hassebrauk, 1933; Gassner und Franke, 1934 und 1938; Gassner und Hassebrauk, 1938) und die an diese angeknüpfte Kritik (Johnson and Johnson, 1935; Hassebrauk, 1939; Gäumann, 1951) hingewiesen. Neuerdings bahnen sich unter Einsatz moderner Analysenverfahren beachtliche Fortschritte an (Forsyth, 1954; Barrett und McLaughlin, 1955), an welche die Hoffnung auf tiefere Einblicke geknüpft ist (Hey, 1948; Lewis, 1953; Allen, 1954).

[1]) Teilveröffentlichung der gleichnamigen Dissertation, Göttingen, 1956.

Die biochemische Analyse kann über den Verlauf des pathologischen Stoffwechsels allerdings nur ungenügend Aufschluß geben (vergl. FUCHS, 1956), denn beobachtete Unterschiede können

1. durch die stofflichen Besonderheiten des Parasiten,
2. durch die infektbedingte Umsteuerung des Wirtsstoffwechsels, oder aber
3. durch eine Überlagerung des Stoffwechselgeschehens b e i d e r Symbiosepartner hervorgerufen werden.

Sicherlich kann aber die biochemische Analyse in vielen Punkten weiterführen, wenn auch die hierdurch gewonnenen Ergebnisse entsprechend der genannten Schwierigkeiten nur mit aller Vorsicht gedeutet werden können.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, am Beispiel der ph. R. 126 A des Weizenschwarzrostes zu untersuchen, ob und inwieweit einzelne lösliche Aminoverbindungen vom Infektionsgeschehen in Mitleidenschaft gezogen werden. Darüber hinaus untersuchten wir die Zusammensetzung der Proteinfraktion gesunder und rostinfizierter Weizenblätter.

I. Material und Methode

1. Biologisches Material, Aufzucht, Infektion und Ernte der Versuchspflanzen

Als Infektionsmaterial diente in allen Fällen *Puccinia graminis tritici* ERIKSS. und HENN., physiologische Rasse 126 A[1]). Die genetische Konstanz des Infektionsmaterials überprüften wir von Zeit zu Zeit mit Hilfe des Schwarzrost-Testsortimentes[1]) (STAKMAN, LEVINE und LOEGERING, 1944). Für die biochemischen Untersuchungen wurden aus dem Testsortiment Sorten ausgewählt, welche nach der Infektion mit ph. R. 126 A möglichst verschiedene „Infektionstypen" zeigen (in Klammern: Infektionstyp): MARQUIS (4 =), RELIANCE (3 +), LEE (2), VERNAL (1 =), ARNAUTKA (± X) und KUBANKA (X —). Für die Vermehrung der Parasiten, aber auch in einigen anderen Fällen, griffen wir auf die lokale Weizensorte LOHMANNs WEENDER WINTERWEIZEN II zurück (Befallstyp 3 +) (im folgenden kurz als LOHMANN bezeichnet).

Der Weizen wurde in autoklavierter Komposterde bis zur infektionsfähigen Größe der Primärblätter unter Gewächshausbedingungen herangezogen. Am achten Tage nach der Aussaat wurden die Primärblätter in der üblichen Weise infiziert (STAKMAN, LEVINE und LOEGERING, 1944) und die Pflanzen anschließend für 48 Stunden bei etwa 20° C und 100proz. relativer Luftfeuchte gehalten. Danach standen die Pflanzen bis zur Aufarbeitung in einem Lichtthermostaten bei 25 ± 1° C[2]). Am siebenten Tage nach der Infektion (Pusteln auf anfälligen Sorten kurz vor dem Aufbrechen) wurden die Primärblätter abgetrennt und aufgearbeitet. In zwei Versuchsreihen mit den Sorten RELIANCE und LEE wurden die Pflanzen auch am elften Tage nach der Infektion geerntet. In jedem Falle wurden gleichzeitig mit den infizierten Pflanzen g e s u n d e Pflanzen aufgearbeitet, welche — abgesehen von der Infektion — unter genau gleichen Bedingungen wie die infizierten Pflanzen aufgewachsen waren.

[1]) Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. E. C. STAKMAN, Dept. of Plantpathology and Botany, University of Minnesota, St. Paul, USA, danke ich für die freundliche Überlassung des Sporenmaterials und für die Übersendung des Saatgutes für das Testsortiment.

[2]) Leider war es während der gesamten Versuchsdauer nicht möglich, gleichmäßige und reproduzierbare Lichtbedingungen aufrechtzuerhalten. Die eingestrahlte Lichtintensität schwankte zwischen 3000 und 40 000 Lux. Besonders ungünstigen Lichtverhältnissen waren die Pflanzen der Sorten MARQUIS und VERNAL ausgesetzt. Verschiebungen des Infektionstyps wurden aber auch hierbei nicht beobachtet.

2. Aufarbeitung des Pflanzenmaterials

Die Aufarbeitung des Pflanzenmaterials wurde mit großer Sorgfalt so durchgeführt, daß die Analyse Aufschluß über qualitative und quantitative Veränderungen geben konnte. Allerdings mußten wir uns bei den letzten auf die Abschätzung der relativen Unterschiede zwischen den Versuchsmustern beschränken (vgl. Papierchromatographische Technik). Als Bezugsgröße für alle Vergleiche wurde das in Parallelproben bestimmte Trockengewicht herangezogen.

Die zur Extraktion bestimmten gewogenen Blätter (etwa 200 Stück) wurden in 1 l Aceton-Wasser-Gemisch (1 : 1) im „Starmix" zertrümmert (50° C; 8—10 Min.) und das Homogenisat durch Papierfilter (Schleicher & Schüll „Weißband" und Nr. 935) von Zelltrümmern und gefällten Inhaltsstoffen befreit. Das mit der Waschflüssigkeit (250 ml Aceton-Wasser-Gemisch) vereinigte Filtrat und der die Proteinfraktion mitenthaltende Filterrückstand wurden getrennt aufgearbeitet.

a) Weiterverarbeitung des Filtrats zur Bestimmung der freien Aminoverbindungen

Der Acetonextrakt wurde im Vakuum bei 35° C bis auf etwa 10 ml eingedampft. Die hierbei ausgefallenen wasserunlöslichen Bestandteile, in der Hauptsache Chlorophyll, wurden durch Zentrifugieren (etwa 2700 g) abgetrennt. Der Bodenkörper wurde dreimal durch Aufschwemmen in dest. Wasser und neuerliches Zentrifugieren gewaschen. Die vom Bodenkörper befreite Analysenlösung wurde mit den Waschflüssigkeiten vereinigt und im Vakuum bis auf etwa 1 ml eingeengt, unter mehrmaligem Nachwaschen mit dest. Wasser quantitativ in 5-ml-Meßkölbchen übergeführt, mit einem Tropfen Toluol versetzt und mit dest. Wasser aufgefüllt. Dieses Rohkonzentrat enthält meist noch merkliche Mengen von Schwebestoffen, welche durch Membranfilter (Membranfiltergesellschaft, Göttingen) entfernt wurden. Das optisch klare Filtrat war bei Verwendung nichtinfizierter Pflanzen hell gefärbt, Konzentrate aus infizierten Pflanzen zeigten dunkelbraunrote Färbung. Die Konzentrate wurden bis zur Durchführung der Analysen im Eisschrank bei etwa —4° C aufbewahrt. Kontrollanalysen zeigten, daß ihre chemische Zusammensetzung während mehrerer Monate unverändert bleibt. Nach längerer Aufbewahrungszeit trat in einigen Fällen eine Trübung ein, welche jedoch auf die Konzentration der untersuchten Substanzen keinen Einfluß hatte.

b) Weiterverarbeitung des Filterrückstandes zur Bestimmung der gebundenen Aminosäuren

Der Filterrückstand (vgl. oben) wurde durch mehrmaliges Waschen mit reinem Aceton vom Chlorophyll und durch zwei- bis dreimaliges Waschen mit Diäthyläther von Lipoiden befreit, an der Luft getrocknet und im Vakuum über P_2O_5 aufbewahrt („Acetontrockenpulver").

Zur Isolierung gereinigter Blattproteine wurden in Anlehnung an METZNER, 1955 je 300 mg Acetontrockenpulver mit 20 ml n NaOH 10 Minuten im Mörser unter Umrühren extrahiert, filtriert und mit 20 ml n NaOH nachgewaschen. Die opaleszierenden Filtrate wurden mit konz. HCl gegen Phenolphthalein neutralisiert, mit Trichloressigsäure bis zu einer Endkonzentration von 10% versetzt und insgesamt 10 Min. auf dem siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Abkühlen wurden die ausgefallenen Proteine abzentrifugiert und dreimal durch Aufschwemmen in Aceton und Abzentrifugieren gewaschen. Das grauweiße Pulver wurde über Blaugel aufbewahrt.

Zur Bestimmung der gebundenen Aminosäuren wurden je 20,0 mg Acetontrockenpulver bzw. 7,0 mg gereinigter Blattproteine mit 3 ml konstantsiedender (6 n) HCl und 0,5 ml Amylalkohol (SIFFERD, 1948; vgl. auch METZNER, 1955) im zugeschmolzenen Rohr zwölf Stunden bei 105° C erhitzt. Danach wurde vom Ungelösten abfiltriert und mit dest. Wasser nachgewaschen. Das klare Filtrat wurde auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, mit dest. Wasser aufgenommen und nochmals eingedampft. Zur Entfernung der letzten Salzsäurereste wurde der Rückstand über Nacht im Vakuum über KOH aufbewahrt, schließlich mit 1 ml 30proz. Äthanol aufgenommen und im Eisschrank konserviert.

3. Papierchromatographische Technik

Als Papier verwendeten wir das der Fa. Schleicher & Schüll Nr. 2043 b. Es wurde fast ausschließlich zweidimensional/aufsteigend gearbeitet. Alle verwendeten Lösungsmittel wurden, sofern es sich nicht um p. a.-Substanzen handelte, vor Gebrauch frisch destilliert. Besondere Sorgfalt wurde hierbei auf die Gewinnung reinen Phenols gelegt (Vakuumdestillation über Zinkstaub, vgl. WIELAND und WIRTH, 1949). Als Lösungsmittelgemische verwendeten wir: in der ersten Richtung s-Butanol/Ameisensäure/Wasser (75 : 13 : 12) (vgl. TURBA, 1954); in der zweiten Richtung citratgepuffertes Phenol (BERRY et. al., 1951; vgl. auch CRAMER, 1953). Jedes Chromatogramm wurde (zur Vergrößerung der R_f-Werte) zuerst zweimal hintereinander mit dem alkoholischen System entwickelt, dann erst erfolgte die Trennung mit Phenol (Thermostat, 22,5 ± 0,5 ° C) in der zweiten Dimension. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnten fast sämtliche ninhydrinpositive Substanzen des vorliegenden Pflanzenmaterials getrennt werden.

Für die Sichtbarmachung der Aminoverbindungen benutzten wir eine 0,2-proz. Lösung von Ninhydrin in n-Butanol/2 n Essigsäure (19 : 1). Nach dem Besprühen wurden die Chromatogramme bis zum Abschluß der Farbentwicklung (18 Stunden) bei Zimmertemperatur belassen. Ein Erhitzen der Bogen wurde bewußt vermieden (PATTON und CHISM, 1951). Für die Erkennung einzelner Aminosäuren benutzten wir: Isatin, diazotierte Sulfanilsäure, p-Dimethylaminobenzaldehyd (CRAMER, 1953) und das Sakaguchi-Reagenz (TURBA, 1954).

Auf eine genaue quantitative Auswertung der Chromatogramme mußte leider verzichtet werden, da das biologische Material, besonders infolge der schwer kontrollierbaren Lichtverhältnisse, zu großen Schwankungen unterworfen war. Zur halbquantitativen Bewertung wurde die Farbintensität und Größe der Flecke auf dem Papier abgeschätzt und vier willkürlich gewählten „Größenklassen" zugeordnet (+, ++, +++, ++++). Spuren einer Substanz wurden mit dem Symbol (+) vermerkt. Die Zuordnung in die einzelnen „Größenklassen" erfolgte stets nur auf Grund eindeutiger und größerer Mengenunterschiede. Schwache Unterschiede wurden aus den oben genannten Gründen nicht berücksichtigt, auch nicht, wenn sie chromatographisch reproduziert werden konnten. Im allgemeinen fertigten wir von jeder Analysenlösung zwei bis drei Chromatogramme an. Traten bei der Auswertung in einzelnen Fällen Unklarheiten auf, so wurden für die Bestimmung fünf bis sechs Chromatogramme je Analysenlösung herangezogen.

II. Versuchsergebnisse

1. Freie Aminoverbindungen

a) Identifizierung

In den untersuchten Pflanzenauszügen konnten 22 ninhydrinpositive Substanzen aufgefunden werden. 17 Verbindungen hiervon wurden mit Sicherheit als Aminosäuren bzw. deren Amide identifiziert, und zwar:

Glutaminsäure, Serin, Asparagin, α-Alanin, Lysin, Leucin und/oder Isoleucin, Valin, Threonin, Histidin, Arginin, Asparaginsäure, Glutamin, Cystin, Glykokoll, Phenylalanin, Tyrosin und γ-Aminobuttersäure.

Prolin und β-Alanin traten auf den Chromatogrammen nur in ganz unbedeutender Menge und in wenigen Pflanzenauszügen auf, so daß sie im folgenden außer acht gelassen werden können.

Fünf weitere ninhydrinpositive Verbindungen („a" bis „e") konnten nicht vollständig identifiziert werden. Sie lassen sich folgendermaßen kennzeichnen:

Substanz „a" findet sich in fast allen Extrakten. Sie läuft im zweidimensionalen Chromatogramm in der Nähe der basischen Aminosäuren, reagiert

deutlich mit dem Sakaguchi-Reagenz und enthält daher mit Sicherheit eine Guanidogruppe. Wahrscheinlich handelt es sich um ein Argininpeptid, möglicherweise aber auch um ein einfacheres Argininderivat. Das in Pflanzenextrakten frei vorkommend nachgewiesene Canavanin (Bonner, 1950) kommt hierfür allerdings nicht in Betracht, da es nach Klein (1931) trotz der Guanidogruppe keine positive Sakaguchi-Reaktion gibt.

Auch die Substanz „b" ist fast in allen Extrakten vorhanden. Sie liegt auf dem zweidimensionalen Chromatogramm an einer Stelle, die sonst von keiner der bisher bekannten Aminosäuren eingenommen wird. Möglicherweise handelt es sich auch bei dieser Verbindung um ein Peptid. Einige aliphatische Amine kommen ebenfalls in Betracht, da sie nach Steiner in verwandten Lösungsmitteln ähnliche R_f-Werte besitzen. Mangels Vergleichssubstanzen konnte dies nicht überprüft werden.

Die Substanz „c" tritt nur in einzelnen Extrakten auf. Die R_f-Werte und die Art der Ninhydrinfärbung deuten allenfalls darauf hin, daß es sich ebenfalls um ein (oder mehrere) Peptid(e) handelt.

Die Substanz „d" konnten wir etwa in der Hälfte der Fälle nachweisen. Sie ist vielfach nicht einwandfrei von der Aminosäure Serin zu trennen. Verschiedene Befunde sprechen dafür, daß der mit „d" bezeichnete Fleck lediglich eine „Verzerrung" des Serins darstellt.

Die Substanz „e" wurde nur in einem einzigen Pflanzenauszug aufgefunden. Über ihre Identität können keine Angaben gemacht werden.

b) Quantitative Veränderungen

Bei der Untersuchung der löslichen Aminoverbindungen ergaben sich auffällige Unterschiede in der Mengenverteilung einzelner Substanzen. Über einige charakteristische Beobachtungen wurde bereits kurz berichtet (Fuchs und Rohringer). Die an erweitertem Material durchgeführten Untersuchungen bestätigten diese in den meisten Fällen. Die Auswertung der Untersuchungen beider Versuchsjahre ist in Tabelle 1 zusammengefaßt. In die Darstellung einbezogen ist die Analyse eines in gleicher Weise wie die Blattextrakte gewonnenen Acetonextraktes aus Uredosporen.

Die Ergebnisse zeigen zunächst eindeutig, daß der Gehalt an freien Aminoverbindungen sortenspezifischen Schwankungen unterliegt. Diese Verschiedenheiten sind bei gesunden Weizenpflanzen wenig ausgeprägt, treten aber nach der Rostinfektion deutlich hervor. Auffallend ist, daß die Veränderungen bei den Weizensorten MARQUIS, RELIANCE, LEE und VERNAL (Versuchsjahr 1954) gleichsinnig verlaufen, während die Sorten ARNAUTKA und besonders KUBANKA gänzlich abweichende Verhältnisse zeigen. Sortenspezifische Unterschiede dieser Art müssen bei der Beurteilung der Ergebnisse zweifellos besonders berücksichtigt werden (siehe Diskussion Seite 58).

Zweitens sei bereits hier darauf hingewiesen, daß die Wiederholung der biochemischen Analyse an Pflanzen der Sorte MARQUIS im zweiten Versuchsjahre prinzipiell ähnliche Ergebnisse zeigte, wie an Pflanzen der gleichen Sorte des ersten Versuchsjahres. Abweichende Befunde ergaben sich hierbei lediglich für die Aminosäuren Histidin + Arginin, Leucin/Isoleucin und Valin und für die beiden Unbekannten „a" und „b" (vergl. Seite 55).

Tabelle 1 Relative Konzentration der freien
Die Konzentration der Substanzen ist aus den Ninhydrin-

Pflanzenextrakt[1])	Versuchs-							
	MARQUIS		RELIANCE			LEE		
	n	i	n	i	ill	n	i	ill
Befallstyp	4=		3+			2		
a-Alanin	+++	++++	++++	++++	+++	+++	+++	++
γ-Aminobuttersäure	(+)	(+)	+	(+)	–	+	(+)	(+)
Asparagin	++++	+	++++	+++	++++	++++	++++	++++
Asparaginsäure	+	++	++	++	+++	++	+	+
Cystin	+	+	+	+	++	++	++	+
Glutamin	++	+++	+++	++++	++++	++	+++	+++
Glutaminsäure	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Glykokoll	(+)	+	++	+	+	++	+	+
Histidin+Arginin	+++	–	++++	+++	+++	+++	+++	++
Leucin/Isoleucin	+++	+	++	++	+	+++	+	+
Lysin	+++	–	++++	++	+	+++	+	+
Phenylalanin	+	(+)	(+)	+	+	+	+	+
Serin	++++	++	++++	++++	+++	++++	+++	+++
„d“	++	+	++	+++	+++	+++	++	(+)
Threonin	++	+	+++	++	++	+++	++	+
Tyrosin	(+)	–	–	+	+	+	–	–
Valin	++	+	+++	++	+	+++	+	+
a“b	+++	–	++	–	(+)	++	+	+
‚„“	++	–	+	(+)	–	++	+	(+)
„c“	+++	–	–	–	++	–	–	+

Die im zweiten Versuchsjahr erstmalig untersuchte Sorte LOHMANN zeigt ähnlich „abweichende“ Verhältnisse, wie sie im ersten Versuchsjahre bei den Sorten KUBANKA und ARNAUTKA beobachtet wurden.

Sieht man von den besprochenen Verschiedenheiten ab, so zeigen die Ergebnisse beider Versuchsjahre ein verhältnismäßig klares Bild. Hinsichtlich ihres Verhaltens nach der Infektion lassen sich die freien Aminoverbindungen in d r e i Gruppen zusammenfassen:

1. Die Konzentration der meisten Substanzen nimmt nach der Infektion ab. Zu dieser Gruppe gehören die Aminoverbindungen Asparagin, Histidin, Arginin, Lysin, Serin, Threonin, die beiden Unbekannten „a“ und „b“ und in einigen Fällen die Aminosäuren Leucin/Isoleucin und Valin.
2. Als einzige Substanz zeigt Glutamin nach der Infektion eine charakteristische Mengenzunahme.
3. Alle übrigen Aminoverbindungen werden durch die Infektion nicht oder wenig beeinflußt.

Aminoverbindungen in den Extrakten *Tabelle 1*
chromatogrammen abgeschätzt (vgl. methodischer Teil)

jahr 1954						Versuchsjahr 1955				
VERNAL		ARNAUTKA		KUBANKA		MARQUIS		LOHMANN		Uredo-sporen
n	i	n	i	n	i	n	i	n	i	
1–		+X		X–		4=		3+		
+++	+++	+++	+++	+++	++++	+++	+++	++	+++	+
(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)	–
++++	(+)	++++	+++	++++	++++	+++	++	+	(+)	–
+	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	–
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++
+	+	+	+++	+	+++	++	+++	(+)	++	++++
++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++
(+)	(+)	+	(+)	(+)	++	+	(+)	–	(+)	·
++++	–	+++	(+)	++	+++	++	++	(+)	+	–
+++	(+)	++	++	+	++	(+)	+	(+)	+	–
+++	–	+++	+	++	++	++	(+)	(+)	+	
·	(+)	(+)	+	(+)	+	–	(+)	–	(+)	–
++++	++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++	·
-	–	–	–	+	+	–	–	–	–	
+++	+	++	++	++	++	++	+	+	(+)	(+)
-	·		(+)	–	(+)	–	(+)	–	–	–
++	+	++	++	++	++	(+)	+	(+)	+	–
+++	–	+++	+	++	+++	+	(+)	–	–	-
+	–	++	(+)	+	+	(+)	(+)	(+)	–	–
	–	++	++	+	+	–	++	(+)	++	–

1) Zeichenerklärung: n = nichtinfiziertes Pflanzenmaterial, i = infiziertes Pflanzenmaterial, am siebenten Tage nach der Infektion geerntet, ill = infiziertes Pflanzenmaterial, am elften Tage nach der Infektion geerntet.

2. Gebundene Aminosäuren

Aus arbeitstechnischen Gründen konnten nicht alle, sondern nur drei Sorten auf ihren Gehalt an gebundenen Aminosäuren untersucht werden. Da es am zweckmäßigsten erschien, hierzu möglichst verschiedene „Infektionstypen" heranzuziehen, wurden die Untersuchungen der Proteinfraktion auf die Sorten RELIANCE, LEE und ARNAUTKA beschränkt.

Für eine genaue Bausteinanalyse der Eiweißkörper muß von Präparaten ausgegangen werden, die man als repräsentativ für das Gesamtprotein bezeichnen kann. Dies ist jedoch nur möglich, wenn es gelingt, alle Eiweißkörper restlos aus dem Pflanzenmaterial oder Trockenpulver herauszulösen. Leider trifft dies für keine der bisher bekannten Methoden zu. Bei einer Extraktion der Proteine muß daher mit der Möglichkeit gerechnet werden, „daß einzelne Fraktionen bevorzugt zurückgehalten werden und damit eine falsche Zusammensetzung der Zellproteine vorgetäuscht wird" (Metzner, 1955). Wir entschieden uns deshalb zunächst für eine Untersuchung des Acetontrockenpulvers, das

in der vorliegenden Form noch alle Eiweißkörper des Pflanzenmaterials enthält. Darüber hinaus untersuchten wir die Aminosäurezusammensetzung des extrahierten und gereinigten Blattproteins.

a) Analyse des Acetontrockenpulvers

Im Hydrolysat des Acetontrockenpulvers konnten wir papierchromatographisch mindestens 13 verschiedene Aminoverbindungen nachweisen, und zwar in großer Menge die Aminosäuren Leucin/Isoleucin, Glutaminsäure, α-Alanin, Glykokoll, Serin, Lysin, Histidin, Arginin, Threonin und Asparaginsäure, in mäßiger Konzentration Valin, Prolin, Phenylalanin und in geringer Menge bzw. nicht in allen Fällen Tyrosin, Methionin und Cystein[1]).

Ferner fand sich bei allen Aufarbeitungen infizierter Pflanzen in mittleren Mengen Glukosamin. Dieser Aminozucker fehlt im Acetontrockenpulver aus gesunden Pflanzen und ist in dem aus infizierten Pflanzen in um so größerer Menge vorhanden, je stärker der Rost fruktifiziert hatte.

So tritt Glukosamin in infizierten RELIANCE-Pflanzen in bedeutend größerer Menge auf, als in infizierten Pflanzen der resistenten Sorte LEE. Die Sorte ARNAUTKA („X"-Typ), die eine relativ gute Fruktifikation des Pilzes erlaubt, nimmt hierbei eine Mittelstellung ein. In Pflanzen, die zu einem späteren Zeitpunkt nach der Infektion geerntet wurden (RELIANCE-ill und LEE-ill), ist die Glukosaminmenge höher, als zum früheren Erntetermin der betreffenden Sorten (RELIANCE-i und LEE-i). Auch dies deutet auf einen Zusammenhang mit dem Ausmaß der Fruktifikation des Rostpilzes hin.

Die Auswertung der Papierchromatogramme ergab ferner, daß die Hydrolysate gesunder Pflanzen grundsätzlich jede Aminosäure in größerer Konzentration enthalten, als die Hydrolysate aus infiziertem Pflanzenmaterial. Das einheitliche Verhalten der Aminosäuren legt den Verdacht nahe, daß Unterschiede im Anteil der Gerüstsubstanzen des Trockenpulvers die Ergebnisse beeinflussen. Um dies zu klären, wurden die „gereinigten" Blattproteine analysiert.

b) Analyse der gereinigten Blattproteine

Bei der Analyse gereinigter Blattproteine sind grundsätzlich die gleichen Eiweißbausteine zu erwarten wie im Hydrolysat des Acetontrockenpulvers. Diese Erwartung wurde in den Versuchen weitgehend erfüllt. Nur Cystein konnte — wohl wegen der geringen Auftragmengen — nicht mehr nachgewiesen werden. Auch Glukosamin fehlte in den Hydrolysaten gereinigter Blattproteine.

Unterschiede in der Zusammensetzung der Blattproteine nichtinfizierter und infizierter Pflanzen lassen sich aus den Chromatogrammen nicht mit Sicherheit ablesen. Bei den Sorten RELIANCE und LEE könnte mit aller

[1]) Darüber hinaus traten einige ninhydrinpositive Substanzen auf, die in allen angewandten Lösungsmittelgemischen schneller wandern, also größere R_f-Werte zeigen als die Leucine. Sie sind wahrscheinlich mit den von METZNER (1955) beschriebenen „Transleucinen" identisch. Da wir sie für Artefakte halten, die bei der Hydrolyse des Trockenpulvers entstehen, wurde auf ihre Auswertung in den Chromatogrammen verzichtet.

Vorsicht bei den meisten Aminosäuren auf eine Abnahme nach der Infektion geschlossen werden, vor allem bei Histidin + Arginin. Die Unterschiede scheinen uns vorerst nicht ausreichend gesichert, um daraus weiter Schlußfolgerungen zu ziehen.

Tabelle 2

Aminosäurezusammensetzung des gereinigten Blattproteins gesunder und infizierter Pflanzen

Die Konzentration der Substanzen ist aus den Ninhydrinchromatogrammen abgeschätzt (vgl. Seite 48)

Hydrolysat[1])	RELIANCE			LEE		KUBANKA	
	n	i	ill	n	i	n	i
Befallstyp	3+			2		X –	
a-Alanin	+++	+++	+++	++++	++++	++++	++++
Asparaginsäure	+++	+++	+++	+++	++	+++	++
Glutaminsäure	++++	++++	+++	++++	+++	++++	++++
Glykokoll	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++
Histidin+Arginin	+++	++	++	+++	++	++	++
Leucin/Isoleucin	++++	++++	+++	++++	+++	++++	++++
Lysin	++	++	+	++	(+)	++	++
Phenylalanin	+	+	(+)	(+)	(+)	+	(+)
Prolin	++	++	++	++	+	++	+
Serin	+++	+++	++	++	++	++	· · ·
Threonin	++	++	+	++	+	++	++
Tyrosin	+	(+)	(+)	(+)	(+)	+	(+)
Valin	++	++	+	++	+	·	·

[1]) Zeichenerklärung siehe Tabelle 1.

Jedenfalls deuten die Ergebnisse darauf hin, daß die bei der Analyse von Acetontrockenpulver aufgetretenen Unterschiede im Aminosäuregehalt der Hydrolysate im wesentlichen durch den unterschiedlichen Gehalt an Begleitsubstanzen bedingt sind, welche nicht Proteincharakter zeigen. Wahrscheinlich ist der Anteil der Gerüstsubstanzen am Trockenpulver infizierter Pflanzen größer als an dem nichtinfizierter. Unter diesen Gerüstsubstanzen spielt sicher der Membranstoff der Rostpilze, das Chitin, eine Rolle, welches bei der Aufarbeitung des Acetontrockenpulvers zu Glukosamin hydrolysiert wird, infolge seiner Alkaliunlöslichkeit aber bei der Darstellung reiner Blattproteine ausgeschaltet wird.

Unklar bleibt zunächst, ob die geringfügigen Veränderungen in der Zusammensetzung der gereinigten Blattproteine auf ähnliche Ursachen zurückgehen. Es liegt nahe, daß es bei der Reinigung und Extraktion der Blattproteine nicht gelang, alle Begleitsubstanzen von den Eiweißkörpern abzutrennen. Als „Verunreinigungen" kämen vor allem Polysaccharide und zusammengesetzte Eiweißkörper in Betracht. Da alle diese Stoffe unter den gegebenen Bedingungen hydrolysiert werden müßten, suchten wir in den Hydrolysaten der gereinigten Blattproteine nach ihren Bausteinen. Mit Anilinphthalat konnten nur ganz unbedeutende Zuckermengen im Chromatogramm festgestellt werden. Die Hydrolysate waren auch praktisch lipoid- und phosphatfrei. Purin- und Pyrimidinbasen ließen sich nur in Spuren erkennen. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß die beobachteten geringfügigen Unterschiede in den Aminosäuren des Reinprotein-Hydrolysates Unterschiede der Proteinzusammensetzung andeuten. Eine endgültige Entscheidung ließ sich unter unseren Versuchsbedingungen jedoch nicht herbeiführen.

III. Diskussion der Ergebnisse

1. Über das Verhalten der löslichen Aminoverbindungen im Infektionsverlauf

Bei den meisten Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel rostinfizierter Getreidepflanzen handelt es sich um Bilanzanalysen (ältere Lit. bei GASSNER und FRANKE, 1938; vergl. auch MURPHY, 1936, und DALY, 1949). Über das Schicksal einzelner Aminoverbindungen liegen — außer der kurzen Mitteilung von FORSYTH (1954), der dieses Problem nur am Rande berührt — unseres Wissens bisher noch keine Angaben vor. Eine Untersuchung dieser Frage mußte davon ausgehen, daß die einzelnen Aminosäuren durch den infektiösen Prozeß in unterschiedlichem Maße betroffen werden. Dies weisen unsere Untersuchungen eindeutig nach.

a) Die infektbedingte Mengenabnahme einzelner Aminoverbindungen

In unseren Untersuchungen wird die Konzentration der meisten Aminoverbindungen durch den infektiösen Prozeß herabgesetzt. Dies steht zunächst im Widerspruch zu der von GASSNER und FRANKE (1938) beobachteten Tatsache, daß der lösliche Stickstoff nach der Infektion ansteigt. Ein unmittelbarer Vergleich unserer Ergebnisse mit diesen Untersuchungen ist aber aus zwei Gründen nicht statthaft:

1. Die Angaben von GASSNER und FRANKE beziehen sich auf die gesamte Fraktion löslicher N-Verbindungen. Es besteht daher die Möglichkeit, daß andere stickstoffhaltige Verbindungen die Veränderungen in der Aminofraktion überdecken.
2. Ferner ist zu bedenken, daß die Untersuchungen von GASSNER und FRANKE zu einem späteren Zeitpunkt nach der Infektion durchgeführt wurden (10. bis 30. Tag), als die Mehrzahl unserer Analysen (7. Tag). Nach den Ergebnissen von GASSNER und FRANKE ist der Anstieg löslicher N-Verbindungen auch erst um den 15. Tag nach der Infektion deutlich ausgeprägt, während sich am 10. Tage in den seltensten Fällen schon ein vermehrter Gehalt an löslichen N-Verbindungen nachweisen läßt.

Der von uns beobachtete Konzentrationsrückgang widerspricht daher nicht den Ergebnissen der genannten Autoren. Die gegensätzlichen Befunde lassen sich vielmehr dahin deuten, daß sich die verschiedenen Phasen der parasitären Symbiose (vergl. SEMPIO, 1950) auch hinsichtlich der Veränderungen des Aminosäurespiegels voneinander unterscheiden. Endgültige Schlußfolgerungen können allerdings erst dann gezogen werden, wenn an ein und demselben Objekt die verschiedenen Phasen untersucht sind. Es ist zwar nicht zu erwarten, daß sich verschiedene Getreideroste stoffwechselphysiologisch völlig verschieden verhalten, es ist aber wahrscheinlich, daß quantitative Unterschiede nicht nur in der Wirkung verschiedener Rostarten bestehen, sondern auch im Zusammenspiel verschiedener Wirtssorten und physiologischer Rassen.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß einzelne Substanzen von der beobachteten Mengenabnahme (nach der Infektion) ganz besonders betroffen werden. Hierfür sind zwei Erklärungen möglich:

1. Daß der Parasit bestimmte Aminosäuren oder ihre Vorstufen in größerem Umfange für sein Wachstum benötigt als andere, oder
2. daß das Nachlieferungsvermögen der Pflanze für einzelne Aminosäuren begrenzt ist.

In beiden Fällen würden die betreffenden Substanzen gegenüber anderen Verbindungen mit der Zeit mengenmäßig zurücktreten. In unseren Pflanzenauszügen gilt dies vor allem für die Hexonbasen Arginin, Histidin und Lysin, die Unbekannte „a" (Argininderivat) und für das Säureamid Asparagin, also ausnahmslos für basische Aminoverbindungen[1]).

Im Sinne der ersten Deutungsmöglichkeit wäre also an einen besonderen Bedarf des Parasiten an basischen Aminosäuren zu denken, etwa derart, daß solche für eine umfangreiche Synthese von Nukleoproteiden benötigt werden. Da die Eiweißkomponente der Nukleoproteide aller Wahrscheinlichkeit nach zu den (basischen!) Histonen gerechnet werden muß (Lit. bei METZNER, 1955), wäre das Verschwinden gerade der freien basischen Aminosäuren nicht überraschend. Es müßte jedoch in diesem Falle bei der Analyse der Blattproteine infizierter Pflanzen ein erhöhter Anteil basischer Eiweißbausteine gefunden werden. Dies ist jedoch nach BARRETT und MCLAUGHLIN (1954) (*P. triticina*) und nach eigenen Untersuchungen n i c h t der Fall. Während wir kaum Veränderungen in der Zusammensetzung der Proteinfraktion infizierter Weizenpflanzen feststellen konnten, ist nach den Ergebnissen von BARRETT und MCLAUGHLIN der basische Anteil der Proteinfraktion in infizierten Pflanzen sogar geringer als in nichtinfizierten. Dies spricht gegen die hier erörterte Deutung der infektbedingten Veränderungen.

Für die Annahme, daß der Mindergehalt an basischen Aminoverbindungen auf einer Hemmung der Synthese bzw. Resynthese beruht, lassen sich verschiedene Gesichtspunkte anführen. Es ist z. B. denkbar, daß der Parasit (oder seine Stoffwechselprodukte) die Biosynthese dieser Verbindungen blokkiert. Dies wäre auf verschiedenen Wegen möglich:

1. Durch Entzug oder Festlegung von Vorstufen oder Zwischenprodukten der Synthese.
2. Durch Entzug von Co-Faktoren oder energiereichen Verbindungen, welche für die Synthese der betreffenden Substanzen erforderlich sind.

Gerade für die Hexonbasen ist bekannt, daß sie an Transaminierungsprozessen nicht (Lysin) oder nur in begrenztem Umfange teilnehmen (WILSON et al., 1954). Sicherlich stehen der Pflanze für die Synthese dieser Substanzen weniger Möglichkeiten zur Verfügung, als etwa für die Synthese anderer, am Stoffwechselgeschehen vielseitig beteiligter Substanzen. Die Blockierung eines

[1]) Die Unbekannte „b" verhält sich ähnlich wie die genannten Verbindungen. Sie ist möglicherweise ebenfalls basischer Natur. Näheres über ihre Zuordnung vgl. S. 49.

einzigen Syntheseschrittes würde in diesem Falle wahrscheinlich genügen, die Biosynthese dieser Verbindungen wirksam zu unterbinden. Das vorliegende Beobachtungsmaterial reicht jedoch nicht aus, diese Deutungsmöglichkeit in ihrer allgemeinen Bedeutung näher zu erörtern.

b) Die infektbedingte Mengenzunahme des Glutamins

Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Aminoverbindungen liegt die Konzentration des Glutamins in allen Fällen im Extrakt infizierter Pflanzen höher als in dem nichtinfizierter. Diese Konzentrationszunahme ist zunächst besonders hervorzuheben, da nach SCHWAB (1936) alle Gramineen als typische Asparaginbildner bezeichnet werden müssen. Nach dem derzeitigen Stand unseres Wissens übernehmen die beiden Säureamide in der Pflanze die Festlegung (Entgiftung) des reaktiven, aus dem Proteinabbau stammenden Ammoniaks (Lit. bei WAELSCH, 1952). Diese Funktion als Wander- und Speicherform des Stickstoffs kommt in gesunden Weizenpflanzen fast ausschließlich dem Asparagin zu. Glutamin ist zwar in gesunden Pflanzen ebenfalls vorhanden, seine Menge bleibt jedoch hinter der des Asparagins weit zurück. Nach der Infektion verschiebt sich dieses Verhältnis in eindrucksvoller Weise zugunsten des Glutamins. Aus den vorliegenden Analysen lassen sich keine Anhaltspunkte dafür finden, daß dieses Verhalten auf eine Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes zurückzuführen ist. Dagegen deuten zwei Beobachtungen darauf hin, daß die Mengenzunahme des Glutamins auf seine Anreicherung im Rostpilz, insbesondere in den Uredosporen, zurückzuführen ist. Erstens ist Glutamin auch im Uredosporenauszug in sehr großer Menge vorhanden und zweitens erscheint es in den Pflanzenauszügen gerade dann in höherer Konzentration, wenn die betreffenden Versuchspflanzen reichlich mit Uredolagern besetzt waren (anfällige Sorten): Nach der Infektion der hochgradig resistenten Sorte VERNAL ist eine Konzentrationszunahme des Glutamins kaum erkennbar. Vergleicht man aber die Pflanzenauszüge gesunder und infizierter RELIANCE-Pflanzen miteinander, so läßt sich leicht feststellen, daß auf dieser anfälligen Sorte viel Glutamin nach der Infektion gebildet wird. Besonders groß ist der Mengenzuwachs des Glutamins, wenn man Pflanzen dieser Sorte zum späteren Zeitpunkt (am elften Tage nach der Infektion) aufarbeitet und analysiert. Es kann daher angenommen werden, daß das vermehrte Auftreten des Glutamins nach der Infektion direkt mit der Bildung der Uredosporen zusammenhängt. Möglicherweise muß man das Glutamin als spezifische Speicherform des Stickstoffs der Uredosporen betrachten.

Unklar bleibt zunächst freilich, welche stoffwechselphysiologische Funktion das Glutamin für den Rostpilz im einzelnen übernimmt. In diesem Zusammenhang kann darauf hingewiesen werden, daß das Amid für einzelne Mikroorganismen Wirkstoffcharakter besitzt (LANKFORD und SNELL, 1943; HAC et al., 1945; LYMAN et al., 1945; ROPER und MCILWAIN, 1948; MCILWAIN et al., 1948; HEATHCOTE und PACE, 1950; WAELSCH, 1952). Welche biologische Funktion das Glutamin in diesen Fällen übernimmt, ist noch

weitgehend ungeklärt. Neuerdings wird häufig die Auffassung vertreten, daß Glutamin (neben Glutathion) bei der Peptid- und Proteinsynthese eine wichtige Rolle spielt oder spielen kann (STEWARD et al., 1954; weitere Lit. bei STEWARD und STREET, 1947; LUGG, 1949; WAELSCH, 1952; STEWARD und THOMPSON, 1954). Abgesehen von seiner Eigenschaft als ergiebige N-Quelle soll Glutamin in der Lage sein, die Energie energiereicher Phosphate zu übernehmen und für die Synthese von Peptidbindungen zur Verfügung zu stellen.

Kürzlich ist noch eine andere Funktion des Glutamins bekannt geworden. Nach Untersuchungen von LELOIR und CARDINI (1953) besitzt *Neurospora crassa* ein Ferment, das die Bildung von Glukosaminphosphat (Baustein des Membranstoffs Chitin) aus Hexose-6-phosphat und Glutamin katalysiert. Auffallend ist hierbei die außerordentliche Spezifität der Reaktion. Dies ist auch für die Deutung unserer Befunde von Interesse. Zweifellos setzt nach Keimung der Uredosporen eine umfangreiche Chitinsynthese ein. Ist als NH_2-Quelle hierfür auch bei den Rostpilzen Glutamin erforderlich? In diesem Falle wäre die Anhäufung des Amids in den Uredosporen verständlich. Zur Klärung dieser Frage muß abgewartet werden, ob auch in Uredosporen der von LELOIR und CARDINI beschriebene Syntheseweg realisiert und ebenso wie dort spezifisch glutamingekoppelt ist.

Zweifellos ist diese Substanz für den Stoffwechsel zahlreicher Mikroorganismen von großer Wichtigkeit. Für eine störungsfreie Entwicklung muß das Amid entweder selbst in ausreichender Menge vorhanden sein, oder der betreffende Organismus muß die Möglichkeit besitzen, es sich aus Glutaminsäure herzustellen (WAELSCH, 1952). Inwieweit der Rostpilz hierbei auf die Synthesefähigkeit seiner Wirtspflanze angewiesen ist, läßt sich zur Zeit noch in keiner Weise überblicken.

c) Aminoverbindungen, deren Menge im Infektionsverlauf keinen großen Schwankungen unterliegt

Unter den Aminosäuren, deren Konzentration in Extrakten aus infizierten und nichtinfizierten Pflanzen keine beachtlichen Unterschiede zeigt, sind vor allem α-Alanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure von besonderer Bedeutung, also diejenigen Aminosäuren, welche besonders intensiv am zentralen Stoffwechselgeschehen beteiligt sind. Alle genannten Verbindungen sind in großem Umfange an Transaminierungsprozessen beteiligt. Es läge daher nahe, anzunehmen, daß gerade diese Verbindungen bei Störungen des Stickstoffhaushaltes in besonderem Maße in Mitleidenschaft gezogen werden, insbesondere auch deshalb, weil ihre Biosynthese direkte Beziehungen zum Kohlenhydratstoffwechsel aufweist, dessen Veränderung durch infektiöse Prozesse einwandfrei nachgewiesen ist. Tatsächlich lassen aber die Analysen nur in einigen Fällen eine geringfügige quantitative Verschiebung der Konzentration dieser Säuren erkennen. Vor einer Deutung dieser Befunde muß allerdings mit Nachdruck darauf hingewiesen werden, daß Querschnittsanalysen gerade für die Verfolgung des Schicksals rasch umsetzbarer Verbindungen nur unzureichende Anhaltspunkte geben, solange nicht schwerste Stoffwechselstörungen vorliegen, welche das Gleichgewicht der zentralen Re-

aktionen grundlegend verändern. Für die an Transaminierungsprozessen oder ähnlichen Vorgängen beteiligten Aminosäuren bestehen umfassende Regulationsmöglichkeiten. Ihre Resynthese ist auf verschiedenen Wegen möglich, so daß ihre Konzentration durch infektbedingte Veränderungen nicht so leicht verschoben werden kann, wie die anderer Stoffe, die über ihre unmittelbaren Vorstufen keinen Anschluß an den „metabolic pool" der Pflanze besitzen.

Auf Grund dieser Überlegungen ziehen wir aus unseren Untersuchungen lediglich den Schluß, daß innerhalb der von uns beobachteten Phase des Wirt-Parasit-Verhältnisses eine Veränderung des durchschnittlichen Gehaltes an α-Alanin, Glutaminsäure und Asparaginsäure nicht nachzuweisen ist. Sicherlich sind aber die genannten Aminosäuren am Infektionsverlauf in größerem Umfange beteiligt, als es die Querschnittsanalyse des vorliegenden Pflanzenmaterials vermuten läßt.

Anders verhält es sich mit den Aminosäuren Glykokoll, Phenylalanin, Tyrosin und γ-Aminobuttersäure. Diese Verbindungen konnten in den Pflanzenauszügen nie in größerer Menge, oft sogar nur in Spuren nachgewiesen werden. Es ist daher nicht verwunderlich, wenn für sie quantitative Veränderungen kaum ermittelt wurden. Über die tatsächliche Mengenverteilung dieser Substanzen können daher keine verläßlichen Angaben gemacht werden.

Etwas näher muß dagegen Cystin betrachtet werden. Diese Aminosäure tritt ebenfalls auf den Chromatogrammen stets in geringer, aber ± gleichbleibender Konzentration auf, nimmt aber in gewisser Beziehung eine Sonderstellung ein. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, ist sie in beträchtlicher Menge im Uredosporenauszug vorhanden. Gleichfalls erscheint sie aber in infizierten RELIANCE-Pflanzen in größerer Menge, und zwar besonders n a c h erfolgter Sporulation des Pilzes (am elften Tage nach der Infektion). Wahrscheinlich geht daher die Mengenzunahme des Cystins, ähnlich wie die des Glutamins, auf seine Eigenschaft als Uredosporeninhaltskörper zurück.

d) Sortenunterschiede hinsichtlich des Gehaltes an einzelnen Aminoverbindungen

Im n i c h t i n f i z i e r t e n Zustande unterscheiden sich die Sorten meist nur unbedeutend in ihrem Gehalt an einzelnen Aminoverbindungen, jedoch scheint jede Weizensorte eine für sie charakteristische Mengenverteilung der Aminoverbindungen zu besitzen.

Anders verhält es sich mit den Sortenunterschieden im i n f i z i e r t e n Zustand. Wie schon auf S. 49 erwähnt, unterscheiden sich die Sorten KUBANKA und LOHMANN in ihrem Verhalten deutlich von allen übrigen Sorten. Auch die Sorte ARNAUTKA nimmt eine gewisse „Sonderstellung" ein, da bei ihr infektbedingte Veränderungen weniger deutlich hervortreten. Gründe für dieses „abweichende" Verhalten können aus unseren Untersuchungen nicht hergeleitet werden, es fällt aber immerhin auf, daß die Sorten ARNAUTKA und KUBANKA als einzige zum Formenkreis *Triticum durum* gehören. Ob hier ursächliche Zusammenhänge vorliegen, müssen weitere vergleichende Untersuchungen klären.

Auffallend ist weiterhin, daß die Sorten MARQUIS und VERNAL (trotz unterschiedlicher Resistenzeigenschaften!) viele Gemeinsamkeiten aufweisen. So ist bei ihnen der Mengenrückgang von Serin, Asparagin, der Leucin-Gruppe und der Hexonbasen nach der Infektion besonders ausgeprägt. Auch hierfür könnten sortenspezifische Eigenschaften verantwortlich gemacht werden. Andererseits muß an dieser Stelle erneut darauf hingewiesen werden, daß Anzucht und Infektion gerade dieser Sorten unter sehr ungünstigen

Lichtbedingungen erfolgte (vgl. S. 46). Obwohl hierbei keinerlei Änderungen des Infektionstyps beobachtet wurden, könnte dieser Befund vielleicht grundsätzlich von Bedeutung sein: Die Pflanzen der genannten Sorten befanden sich möglicherweise in einem ernährungsphysiologischen „Engpaß" und wurden durch die Infektion der Möglichkeit beraubt, das entstandene Defizit in der Folgezeit auszugleichen. Weitere Untersuchungen müßten zeigen, ob die Inhaltsstoffe durch Außenfaktoren tatsächlich in der beobachteten Weise beeinflußt werden. Über die Resistenzbeeinflussung durch Außenfaktoren liegen zahlreiche Untersuchungen vor (Lit. bei Shukla, 1954, und Allen, 1954). Sicherlich sind bei diesen Veränderungen letzten Endes stoffliche Beziehungen ausschlaggebend. Es wäre deshalb nicht überraschend, wenn auch im vorliegenden Falle ernährungsphysiologische Faktoren eine Rolle spielten, auch wenn sie sich nicht in einer Änderung des Infektionstyps äußern.

e) Über die Inhaltsstoffe des Sporenauszuges

Abschließend muß noch kurz auf den Gehalt des Uredosporenextraktes an freien Aminoverbindungen eingegangen werden. Auf den besonders hohen Glutamingehalt wurde bereits hingewiesen. Neben Glutamin konnten nachgewiesen werden: Glutaminsäure, Cystin, und in geringer Menge α-Alanin, Asparaginsäure, Serin und Threonin. Nach Broyles (1952) enthalten die Uredosporen dagegen mindestens 18 Aminosäuren und 11 weitere ninhydrinpositive (hydrolyseunbeständige) Aminoverbindungen. Diese Angaben beziehen sich auf Äthanolextrakte von Uredosporen verschiedener Rostarten und physiologischer Rassen. Aus der kurzen Mitteilung des Autors geht außerdem hervor, daß sich die verschiedenen Rassen in ihrem Gehalt an einzelnen Komponenten unterscheiden. Sicherlich enthalten auch die von uns untersuchten Uredosporen mehr als die genannten sieben Aminoverbindungen, da wir bewußt auf eine erschöpfende Extraktion verzichtet hatten. Es kam uns vielmehr nur darauf an, festzustellen, welche Sporeninhaltsstoffe bei dem von uns gewählten Aufarbeitungsverfahren infizierter Pflanzen miterfaßt werden. Daher waren wir an Extraktionsbedingungen gebunden, welche keine erschöpfende Aufarbeitung der Uredosporen gestatteten. Es erübrigt sich daher ein Vergleich unserer Ergebnisse mit denen anderer Autoren.

2. Zur Bedeutung der Proteinstoffe für das Wirt-Parasit-Verhältnis

Frühzeitig wurde bereits bei Betrachtung des Resistenzproblems im allgemeinen und der Resistenz gegen Rostpilze im speziellen den Eiweißkörpern der Wirtspflanze große Bedeutung für den Verlauf der parasitären Symbiose zugeschrieben. Die Deutung dieser Beziehung war verschieden. Einerseits wurde angenommen, daß „höherer Eiweißgehalt auf rein ernährungsphysiologischem Wege Entwicklung und Fruktifikation der Rostpilze verbessert" (Gassner und Hassebrauk, 1938). Andererseits wurden in der Proteinfraktion „neutralisierende Antikörper" vermutet, die als Produkte der Wirtszelle diese gegen parasitogene Einflüsse schützen. Da sich alle diese Betrachtungen auf Bilanzanalysen mit der früher allein zugänglichen unzureichenden Methodik stützen, kann ihnen auf Grund des heutigen Standes der Erkenntnis keine große Beweiskraft zugebilligt werden. Nur mit den inzwischen verfeinerten Methoden ist es vielleicht möglich, diese Zusammenhänge näher zu untersuchen.

Bei Beginn unserer Arbeit lagen keine Ansätze in dieser Richtung vor. Erst 1954 wurde von Barrett und McLaughlin über Untersuchungen an Proteinfraktionen braunrostinfizierter Weizenpflanzen berichtet. Da diese Arbeit an schwer zugänglicher Stelle erschienen ist, sei ihr Inhalt im folgenden kurz wiedergegeben.

BARRETT und MCLAUGHLIN fanden mit Hilfe elektrophoretischer und chromatographischer Methoden qualitative Unterschiede zwischen Eiweißpräparaten aus infizierten und gesunden Pflanzen der (gegen die verwendete Rostrasse) anfälligen MICHIGAN AMBER, während die resistente Sorte PAWNEE keine klaren Unterschiede erkennen ließ: Auf Grund von Schätzungen aus dem Chromatogramm ließ sich eine starke Verkleinerung des NH_2 : COOH-Quotienten im rosterkrankten Blatt feststellen. Daraus wurde auf eine Ladungsverschiebung der Proteine nach der negativen Seite geschlossen, welche sich tatsächlich in den Elektrophoreseversuchen nachweisen ließ. Die Autoren weisen darauf hin, daß ähnliche Veränderungen auch im Laufe der Alterung der Weizenpflanze auftreten (vgl. auch LUGG, 1949; SMITH und AGIZA, 1951).

Unsere Untersuchungen an gereinigten Proteinen schwarzrostinfizierter und gesunder Pflanzen ließen auch bei der anfälligen Sorte MARQUIS keine extremen infektbedingten Unterschiede im Mengenverhältnis der gebundenen Aminosäuren erkennen.

Sicherlich lassen sich unsere Ergebnisse nicht unmittelbar mit denen von BARRETT und MCLAUGHLIN vergleichen. Erstens muß die Verschiedenheit des biologischen Materials berücksichtigt werden, und zweitens verwandten die genannten Autoren wesentlich ältere und zweimalig infizierte Pflanzen für ihre Analysen. Alterungs- und Degenerationserscheinungen (siehe oben) können die gewonnenen Ergebnisse sicherlich in der einen oder in der anderen Richtung beeinflussen. Ein weiterer und noch tiefer greifender Unterschied zwischen den Ergebnissen von BARRETT und MCLAUGHLIN und unseren Versuchen wird von diesen Bedenken allerdings weniger berührt. Es handelt sich hierbei um die qualitative Zusammensetzung des Blattproteins der g e s u n d e n Pflanzen. Abgesehen davon, daß Glutaminsäure im Protein gesunder Pflanzen von MICHIGAN AMBER fehlt, worauf die Autoren bereits selbst mit Bedenken hinweisen, konnten in den Hydrolysaten auch α-Alanin und Glykokoll nicht ermittelt werden, während wir in allen Fällen verhältnismäßig große Mengen von Glutaminsäure, α-Alanin und Glykokoll im Blattprotein der Weizenpflanze fanden. Unsere Ergebnisse stehen in Einklang mit ähnlichen Untersuchungen der Proteine von Gramineen (LUGG, 1949; SMITH und AGIZA, 1951) und zahlreichen anderen Pflanzenfamilien (STEWARD und THOMPSON, 1954; KESER, 1955). Eine eingehende Nachprüfung der Befunde von BARRETT und MCLAUGHLIN erscheint daher um so dringlicher, als gerade die Glutaminsäure bei den Erörterungen dieser Autoren eine entscheidende Rolle spielt. Unter diesen Umständen muß man gegenüber der Schlußfolgerung von BARRETT und MCLAUGHLIN Vorsicht walten lassen, welche meinen, daß die Unterschiede im NH_2 : COOH-Quotienten zwischen den Sorten PAWNEE und MICHIGAN AMBER für die Resistenzunterschiede bedeutungsvoll sind. Nach Ansicht der genannten Autoren soll ein hoher NH_2 : COOH-Quotient die Voraussetzung für die Fruktifikation des Rostes sein. Diese Auffassung nähert sich der von GASSNER und HASSEBRAUK (1938) entwickelten Vorstellung, nach der den Eiweißkörpern der Wirtspflanze ernährungsphysiologische Bedeutung für die Entwicklung des Pilzes zukommt. Selbst wenn ein unanfechtbarer Wert für die Sorte MICHIGAN AMBER vorläge, wäre diese Deutung bedenklich, da keine Resistenztheorie der physiologischen Spezialisierung gerecht wird, wenn sie sich ausschließlich auf präinfektionell vorhandene stoffliche Unterschiede stützt.

Die Ergebnisse der Elektrophoreseversuche von BARRETT und MCLAUGHLIN werden von den bisher besprochenen Bedenken nicht berührt. Sie weisen, im Gegensatz zu unseren Proteinanalysen, auf qualitative Veränderungen während des Krankheitsprozesses hin. Diese können so gedeutet werden, daß neue (saure) Proteinstoffe entstanden sind. Freilich bleibt bei der sehr starken (zweimaligen) Infektion in den Versuchen der genannten Autoren die Frage offen, ob das „neue" Eiweiß vielleicht ein Produkt des Pilzmyzels ist (die Uredosporen wurden vor der Analyse entfernt). Trotz unserer ergebnislosen Bemühungen halten wir es für möglich, daß Unterschiede in der Proteinzusammensetzung gesunder und infizierter Pflanzen tatsächlich bestehen und daß sich die elektrophoretischen Befunde von BARRETT und MCLAUGHLIN als richtig herausstellen. Es besteht ja die Möglichkeit, daß weitgehend unabhängig von der Zusammensetzung, durch Veränderung der Größe, Gestalt und Faltung der Eiweißmoleküle elektrophoretisch faßbare Veränderungen eintreten.

3. Schlußbetrachtung

Unsere Untersuchungen über den Einfluß der Schwarzrostinfektion auf den Aminosäure- und Eiweißstoffwechsel führten zu keinen eindeutigen und klaren Ergebnissen, was in Anbetracht der Schwierigkeit des bearbeiteten Problemkreises nicht überrascht. Sie bestätigen zwar, daß der infektiöse Krankheitsprozeß entscheidend in den Aminosäurehaushalt eingreift und charakteristische qualitative und quantitative Änderungen hervorruft. Die Auswirkung dieser Veränderungen auf die Zusammensetzung der Proteinfraktion konnten wir unter unseren Versuchsbedingungen allerdings nicht feststellen. Einzelheiten über die zugrunde liegenden Stoffwechselbeziehungen lassen sich aus ihnen noch nicht ablesen, sie vermitteln nur Anhaltspunkte für weitere Untersuchungen, welche sich nicht auf biochemische Analysen allein stützen, sondern auch experimentelle Eingriffe in den Stoffwechsel einschließen werden.

Zusammenfassung

1. Keimpflanzen verschiedener Weizensorten wurden vor und nach Infektion mit *Puccinia graminis tritici* (physiol. Rasse 126 A) auf Veränderungen in ihrem Gehalt an freien Aminoverbindungen und gebundenen Aminosäuren untersucht.
2. In Weizenkeimpflanzen konnten 22 ninhydrinpositive freie Aminoverbindungen erfaßt und hiervon 17 als Aminosäuren identifiziert werden. Sortenspezifische Unterschiede waren in gesunden Pflanzen nur in geringem Umfange nachzuweisen.
3. Unter dem Einfluß der Rostinfektion verschiebt sich das Mengenverhältnis der freien Aminoverbindungen in charakteristischer Weise. Die beobachteten Veränderungen verlaufen bei den meisten Sorten gleichsinnig.
4. Besonders auffällige Unterschiede konnten für das Säureamid Glutamin ermittelt werden. Seine Konzentration steigt in infizierten Pflanzen regelmäßig an.

5. Die Aminosäurezusammensetzung der Blattproteine bleibt nach unseren Untersuchungen durch die Infektion unbeeinflußt. Desgleichen konnten sortenspezifische Unterschiede nicht festgestellt werden. In den Hydrolysaten wurden 16 Aminosäuren aufgefunden und identifiziert.
6. Die erhaltenen Analysendaten werden im Zusammenhang mit Ergebnissen anderer Autoren erörtert.

Literaturverzeichnis

ALLEN, P. J., 1954: Physiological aspects of fungus diseases of plants. Ann. Rev. Plant Physiol., **5**, 225.

BARRETT, R. E., and J. H. MCLAUGHLIN, 1954: Disease-resistance factors in wheat. Electrophoretic and chromatographic analysis of protein extracts of wheat seedlings. J. Agric. Food Chem. **2**, 1026.

BERRY, H. K., H. E. SUTTON, L. CAIN, and J. S. BERRY, 1951: Development of paper chromatography for use in the study of metabolic patterns. Univ. Texas Publ. No. **5109**, 22.

BONNER, J., 1950: Plant Biochemistry. New York.

BROYLES, J. W., 1952: Sugar and amino acid composition and variations found in urediospores of races of cereal rusts. Phytopathology, **42**, 3.

CRAMER, F., 1953: Papierchromatographie. Weinheim (Bergstraße).

DALY, J. M., 1949: The influence of nitrogen source on the development of stem rust of wheat. Phytopathology, **39**, 386.

FORSYTH, F. R., 1954: Effect of DDT on the metabolism of Khapli wheat seedlings. Nature, **173**, 827.

FUCHS, W. H., 1956: Ein Beitrag zur pathologischen Physiologie. Angew. Bot. **30**, 141—146.

— —, und R. ROHRINGER, 1955: Biochemische Veränderungen im Weizenblatt durch Infektion mit *Puccinia graminis tritici*. Naturwissenschaften, **42**, 20.

GÄUMANN, E., 1951: Pflanzliche Infektionslehre. Basel.

GASSNER, G., und W. FRANKE, 1934: Der Stickstoffhaushalt junger Weizenpflanzen in seiner Abhängigkeit von der Mineralsalzernährung. Phytopath. Z., **7**, 187.

— —, und — —, 1938: Untersuchungen über den Stickstoffhaushalt rostinfizierter Getreideblätter. Phytopath. Z., **11**, 517.

— —, und K. HASSEBRAUK, 1931: Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Mineralsalzernährung und Verhalten der Getreidepflanzen gegen Rost. Phytopath. Z. **3**, 535.

— —, und — —, 1933: Über die Beeinflussung der Rostanfälligkeit durch Eintauchen geimpfter Blätter in Lösungen von Mineralsalzen und anderen Stoffen. Phytopath. Z. **5**, 323.

— —, und — —, 1938: Untersuchungen über den Einfluß von Äther- und Chloroformnarkose auf das Rostverhalten junger Getreidepflanzen. Phytopath. Z., **11**, 47.

HAG, L. R., E. E. SNELL, and R. J. WILLIAMS, 1945: Microbiological determination of amino acids. II. Assay and utilization of glutamic acid and glutamine by *Lactobacillus arabinosus*. J. Biol. Chem. **159**, 273.

HASSEBRAUK, K., 1939: Untersuchungen über den Einfluß einiger Außenfaktoren auf das Anfälligkeitsverhalten der Standardsorten gegenüber verschiedenen physiologischen Rassen des Weizenbraunrostes. Phytopath. Z. **12**, 233.

Heathcote, J. C., and J. Pace, 1950: Inhibition of the growth of *Leuconostoc mesenteroides* by the toxic factor from agenized zein — reversal by L-glutamine. Nature **165**, 354.

Hey, A., 1948: Das Rostproblem. Festschr. 50jähr. Bestehen der BZA., 165—172.

Johnson, T., and O. Johnson, 1935: Studies on the nature of disease resistance in cereals. III. The organic nitrogen content of mature and immature tissues of the wheat plant in relation to stem rust resistance. Canad. J. Res. (C) **13**, 355.

Keser, M., 1955: Papierchromatographische Untersuchungen über das Auftreten freier und gebundener Aminosäuren in höheren Pflanzen. Planta, **45**, 273.

Klein, G., 1931: Handbuch der Pflanzenanalyse. Wien.

Lankford, C. E., and E. E. Snell, 1943: Glutamine as a growth factor for certain strains of *Neisseria gonorrheae*. J. Bacteriol., **45**, 411.

Leloir, L. F., and C. E. Cardini, 1953: The biosynthesis of glucosamine. Biochim. Biophys. Acta, **12**, 15.

Lewis, R. W., 1953: An outline of the balance hypothesis of parasitism. Am. Naturalist **87**, 273.

Lugg, J. W. H., 1949: Plant proteins. Adv. Proteinchem. **5**, 229.

Lyman, C. M., K. A. Kuiken, L. Blotter, and F. Hale, 1945: The microbiological determination of amino acids. II. Glutamic acid. J. Biol. Chem., **157**, 395.

McIlwain, H., J. A. Roper, and D. E. Hughes, 1948: Relationships in streptococci between growth and metabolism of glutamine. Biochem. J., **42**, 492.

Metzner, H., 1955: Veränderungen der Blattproteine bei photoperiodischer Induktion. Planta, **45**, 493.

Murphy, H. C., 1936: Effect of crown rust on the composition of oats. Phytopathology **26**, 220.

Patton, A. R., and P. Chism, 1951: Quantitative paper chromatography of amino acids. Analyt. Chem., **23**, 1683.

Roemer, T., W. H. Fuchs und K. Isenbeck, 1938: Die Züchtung resistenter Rassen der Kulturpflanzen. Berlin.

Roper, J. A., and H. McIlwain, 1948: Preparation and antibacterial action of some compounds structurally related to glutamic acid. Their application in microbiological determination of small quantities of glutamine. Biochem. J. **42**, 485.

Schwab, G., 1936: Studien über Verbreitung und Bildung der Säureamide in der höheren Pflanze. Planta, **25**, 579.

Sempio, C., 1950: Metabolic resistance to plant diseases. Phytopathology **40**, 799.

Shukla, T. N., 1954: Factors affecting variability in cereal rust reactions a review. J. Ind. Bot. Soc. **33**, 73.

Sifferd, R. H., 1949: Preparation of amino acids. United States Patent Office (No. 2 460 040).

Smith, A. M., and A. H. Agiza, 1951: The amino acids of several grassland species, cereals and braken. J. Sci. Food Agric. **2**, 503.

Stakman, E. C., M. N. Levine, and W. Q. Loegering, 1944: Identification of physiological races of *Puccinia graminis tritici*. U. S. Dept. Agr. B. E. P. Q. Sect. E. 617.

Steiner, M.: Mündliche Mitteilung.

Steward, F. C., and H. E. Street, 1947: The nitrogenous constituents of plants. Ann. Rev. Biochem., **16**, 417.

— —, and J. F. Thompson: Proteins and proteinmetabolism in plants (in: „The Proteins", H. Neurath and K. Balley, New York, 1954).

Steward, F. C., R. H. Wetmore, J. F. Thompson, and J. P. Nitsch, 1954: A quantitative chromatographic study of nitrogenous compounds of shoot apices. Am. J. Bot. **41**, 123.

Turba, F., 1954: Chromatographische Methoden in der Proteinchemie. Berlin, Göttingen, Heidelberg.

Waelsch, H., 1952: Certain aspects of intermediary metabolism of glutamine, asparagine and glutathione. Adv. Enzymol., **13**, 238.

Wieland, T., und L. Wirth, 1949: Papierchromatographische Analyse der durch Erhitzen mit Alkali gebildeten Zersetzungsprodukte von Serin, Threonin und Cystein. Chem. Ber., **82**, 468.

Wilson, D. G., K. W. King, and R. H. Burris, 1954: Transamination reactions in plants. J. Biol. Chem., **208**, 863.

Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt
Zürich-Oerlikon
(Vorstand: Dr. R. Salzmann)

Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten

II. Vitamine B_1 und Biotin; *Calonectria graminicola*

Von

Hans Zogg

Mit 6 Abbildungen

Über die Beeinflussung des saprophytischen Wachstums pflanzlicher Erreger in vitro bestehen in der Literatur sehr viele Angaben, auf deren Aufzählung hier verzichtet wird. Ebenso ist bekannt, daß physiologische Vorgänge wie Antibioticumbildung (z. B. Turel 1952), Gärvermögen (z. B. Wikén et al. 1952, 53, 54) usw. durch Zusätze von Vitaminen gesteuert werden können.

Im Verlaufe von Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten (Zogg 1951) tauchte die Frage auf, ob Vitamine die Pathogenität von pflanzlichen Parasiten zu beeinflussen vermögen. Ein erstes Beispiel in dieser Richtung wurde vor einigen Jahren Flück (1955) zur Bearbeitung übergeben, nachdem es sich in einigen Vorversuchen gezeigt hatte, daß Vitaminzusätze zu synthetischer Nährlösung eine Veränderung der Pathogenität z. B. von *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr. bedingen können. Für *Ophiobolus graminis* Sacc. zeigte Flück (l. c.), daß die Pathogenität durch Zugabe von Aneurin gesteigert wird, und zwar wahrscheinlich als Folge eines intensiveren Wachstums der sog. Laufhyphen.

Wie sich bereits gezeigt hat, vermag die Vorkultivierung gewisser pflanzlicher Parasiten auf Stroh eine starke Pathogenitätssteigerung auszulösen (Zogg 1956 a), wobei sich allerdings genaue Wachstumsbestimmungen nicht durchführen ließen. Weitere Versuche wurden mit synthetischer Nährlösung vorgenommen, um neben der Beeinflussung der Pathogenität auch diejenige des saprophytischen Wachstums (Myzelgewichtsbestimmungen) feststellen zu können.

Parasit und Versuchsmethodik

Als Parasit wurde *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr. gewählt, der am 4. Mai 1951 von Winterweizen-Stroh (Lugano, Kt. Tessin) aus der Hauptfruchtform isoliert und seither auf 2 % Malzagar gezüchtet wurde. Der Pilz erwies sich als stark B_1 und Biotin-heterotroph. Vor der Kultivierung auf synthetischer Nährlösung wuchs der Pilz zuerst auf einer dünnen Schicht von 2 % Malzagar in Petrischalen, um durch Ausstanzen mit einer Platinöse von gleich großen Agarstücken gleichviel und gleichaltriges Material für die Beimpfung der synthetischen Nährlösung zu erhalten. Wie bereits kurz mitgeteilt (ZOGG 1956 b), setzte sich die verwendete Nährlösung wie folgt zusammen: 2 % Glukose, 1,2 ‰ Glykokoll, 1,5 ‰ KH_2PO_4, 0,5 ‰ $MgSO_4$, Spur $FeCl_3$, doppelt dest. Wasser, mit oder ohne Zugabe von Vitamin B_1 bzw. Biotin (Konzentrationen vgl. Tabellen). Die verwendeten Glaskolben (Jenaer Glas) wurden zuerst mit Sodalösung und anschließend mit konzentrierter Salzsäure behandelt und gut ausgespült, dann während einer Stunde mit dest. Wasser ausgekocht, mit der entsprechenden Nährlösung beschickt, mit entfetteter Watte verschlossen und im Autoklaven während 20 Minuten (1 Atü) sterilisiert. Zur Bestimmung des Myzeltrockengewichtes wurden am Tage der Infektion die Myzelien im Autoklaven (20 Min., 1 Atü.) abgetötet, dann mit Papierfiltern von der Nährlösung getrennt (je fünf Kolben gesamthaft) mit 500 cc etwa 60 ° C warmem, destilliertem Wasser fünfmal ausgewaschen, im Trockenschrank bei 60 ° C zwölf Stunden vorgetrocknet, während vier Stunden bei 103 ° C vollständig getrocknet und nach Abkühlung gewogen. Die Infektion erfolgte in Tontöpfen (7 cm ⌀) mit Terralit (trockensterilisiert bei 120 ° C während drei Stunden). Die mit kaltem, destilliertem Wasser zweimal ausgewaschenen Myzelien wurden mit Knop'scher Nährlösung auf das Terralit aufgegossen, die gebeizten und vorgekeimten Weizenkörner der Sorte Probus auf die Myzelien ausgelegt (20 Körner je Topf), mit sterilisiertem Terralit zugedeckt, mit Knop'scher Nährlösung fertig befeuchtet und bei Zimmertemperatur während 16—18 Tagen unter künstlicher Beleuchtung gehalten. Die Beizung und Vorkeimung der Weizenkörner wurde folgendermaßen durchgeführt: Vier Stunden vorquellen unter mehrmaligem Wechseln des Wassers bei Zimmertemperatur, anschließend Heißwasserbeize (10 Min. 52 ° C), abschrecken und liegenlassen in 0,5%iger For-

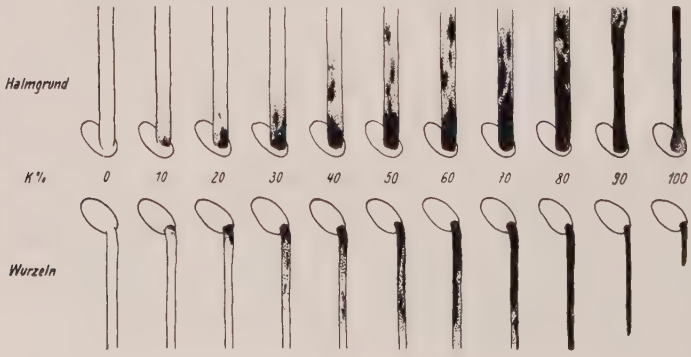


Abb. 1. Schematische Wiedergabe der Krankheitsindizes (K %) 0—100 für Halmgrund (obere Reihe), Primär- und Sekundärwurzeln (untere Reihe)

malinlösung (40 %iges Formaldehyd) während zweier Stunden, auswaschen mit sterilem, destilliertem Wasser, einwickeln der Körner in sterile Filter-Papierstreifen, anfeuchten mit sterilem Wasser und aufbewahren der Körnerpakete in sterilen, großen Feuchtschalen (Esmarchschalen) während dreier Tage bei Zimmertemperatur; für die Infektion kamen nur gut keimende Körner zur Verwendung. Die Bonitierung der Krankheitsindizes erfolgte in einer gegenüber früher etwas abgeänderten Art; die Krankheitsindizes wurden nach dem in der Abbildung 1 aufgestellten Schema für Primär- und Sekundärwurzeln sowie für den Halmgrund getrennt festgestellt und nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Krankheitsindex K \%} = \frac{\text{Anzahl Pflanzen} \times \text{Bonitierungszahl der entsprechenden Krankheitsstufe für Primärwurzeln + Sekundärwurzeln + Halmgrund}}{3 \times \text{Gesamtzahl der bonitierten Pflanzen}}$$

Die Versuche wurden in je fünffacher Wiederholung durchgeführt und die Resultate nach der Methodik der mathematisch-statistischen Streuungszerlegung ausgewertet, wobei sich zeigte, daß die Schwankungen der Krankheitsindizes ungefähr bei 10 % liegen.

Versuchsresultate und deren Besprechung

In einem ersten Versuch (Tabelle 1, Abb. 2, 3 und 4) wurden zur Nährlösung je 0, 0,5, 5, 50 und 500 γ/l B_1 bzw. Biotin und deren möglichen Kombinationen zugegeben. Der Pilz wuchs ohne Vitaminzugabe sehr schlecht; sein Wachstum konnte auch mit massiven Dosen von B_1 nur wenig gefördert werden. Ebensowenig vermochte der Pilz mit Biotin allein gut zu wachsen. Erst bei Kombination der beiden Vitamine (50 bzw. 500 γ/l B_1 und 0,5—500 γ/l Biotin) erfolgte ein üppiges Wachstum, währenddem bei 0,5 γ/l B_1 und steigenden Biotingaben das Wachstum noch schlecht, bei 5 γ/l B_1 und steigenden Biotinmengen mittelmäßig war.

Für die Infektion wurde jeweils sämtliches Myzel eines Kolbens als Infektionsmaterial benutzt. Die Infektionsdosis selbst scheint keine Rolle zu spielen, können doch z. B. bei schlecht wachsenden und bei sehr gut wachsenden Myzelien mittelstarke bis starke oder ganz schwache Infektionen ausgelöst werden (vgl. z. B. Tab. 1, Kolonne 0 γ/l B_1 bzw. 500 γ/l B_1).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, tritt bei steigenden Biotingaben eine z. T. recht erhebliche Depression des Krankheitsindexes ein. Bei 0 γ und 0,5 γ/l B_1 liegt diese Depression zwischen 5 und 50 γ/l Biotin. Bei höheren B_1-Gaben ist die Depression nicht mehr scharf abgegrenzt, sondern sie erstreckt sich von 0,5—50 γ/l Biotin (bei Zugabe von 5 γ/l B_1), von einer Stufe zwischen 0 und 0,5 γ/l Biotin bis zu einer Stufe von 5—50 γ/l Biotin bei Zugabe von 50 bzw. 500 γ/l B_1. Der Abfall der Krankheitsindizes ist schleichend geworden. Im Gegensatz dazu zeigt sich eine leichte Verstärkung der Krankheitsindizes bei steigenden B_1-Gaben vor allem in der Nährlösung ohne Biotin, was auch aus der Abbildung 2 (einzelne Nährlösungen) hervorgeht. Die Abbildungen 3 und 4 sollen veranschaulichen, daß zwischen Wachstum und Pathogenität überhaupt keine Beziehungen bestehen.

Tabelle 1

Einfluß von B_1 und Biotin auf Pathogenität (Krankheitsindex K %) und Myzelwachstum (mg) von *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr.

	0 γ/l B_1		0,5 γ/l B_1		5 γ/l B_1		50 γ/l B_1		500 γ/l B_1	
	K %	mg	K %	mg	K %	mg	K %	mg	K %	mg
0 γ/l Biotin	35,3	3,7	50,4	24,8	56,3	19,1	54,1	40,7	56,6	29,0
0,5 γ l Biotin	40,5	3,8	48,2	25,8	51,6	416,1	40,9	740,0	44,5	704,9
5 γ/l Biotin	44,8	4,1	41,4	22,8	34,2	380,0	33,0	698,5	36,9	754,5
50 γ/l Biotin	14,1	8,2	18,0	26,0	23,0	424,3	22,0	665,0	21,1	723,4
500 γ/l Biotin	11,8	4,1	14,7	28,4	26,6	362,0	28,0	683,8	20,2	717,4

nicht infiziert: 1,8 %; Grenzdifferenz (K %): 5 % : 8,2; 1 % : 10,9.

Die Versuche wurden mit etwas abgeänderten B_1- und Biotingaben noch zweimal wiederholt und dabei praktisch dieselben Resultate erzielt (Tab. 2 u. 3).

Hinsichtlich der Biotingaben ist festzustellen, daß diese eine Depression der Krankheitsindizes verursachen. Die Depression tritt sowohl bei schlechtem als auch bei mittlerem und üppigem, vegetativem Wachstum auf. Bei höheren B_1-Gaben ist der Übergang zur Depression eher verwischt über mehrere Konzentrationsstufen. Wie die Ab-

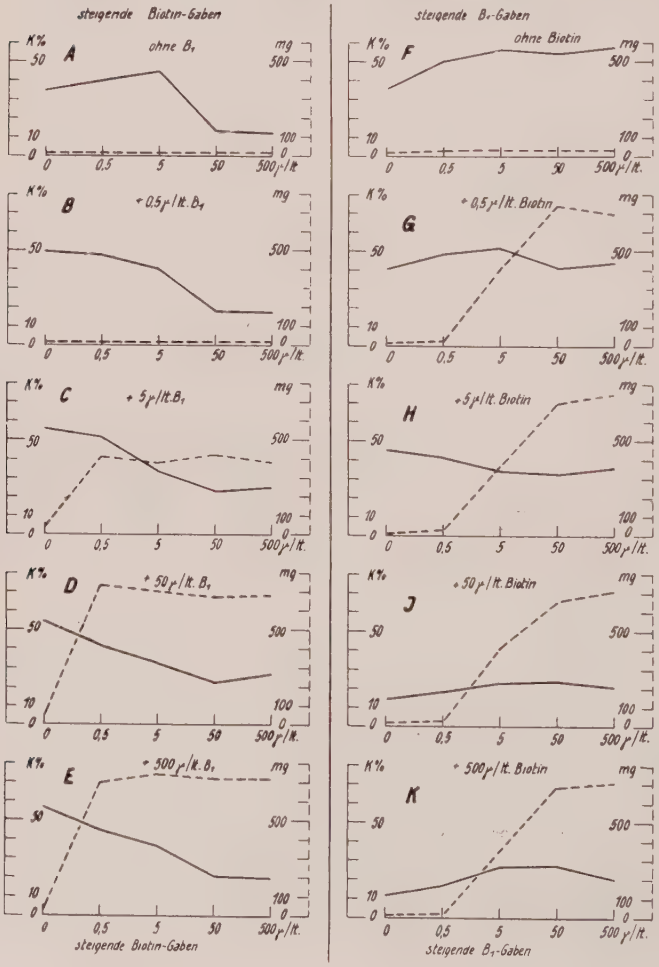


Abb. 2. Beeinflussung von Pathogenität (ausgezogene Kurven: K %) und Wachstum (gestrichelte Kurven: mg) von *Calonectria graminicola* durch die Vitamine B_1 und Biotin in verschiedenen Konzentrationen

bildung 5 zeigt, erfolgt die Depression bei höheren Biotingaben und niedrigeren B_1-Gaben, dagegen braucht es weniger Biotin bei höheren B_1-Gaben, um die Depression einzuleiten. — Hinsichtlich der B_1-Gaben können zwei Sektoren festgestellt werden, in denen eine leichte Verstärkung des Befallsgrades eintritt (Abb. 6), und zwar bei mittleren und höheren B_1-Gaben, sowohl niederen als auch hohen Biotinzusätzen. Die Verstärkung der Krankheitsindizes läuft mit dem vegetativen Wachstum ebensowenig parallel.

Aus verschiedenen weiteren Versuchen zeigte sich, daß das Verhalten des Parasiten eher als labil anzusehen ist und daß sehr wahrscheinlich die Umweltbedin-

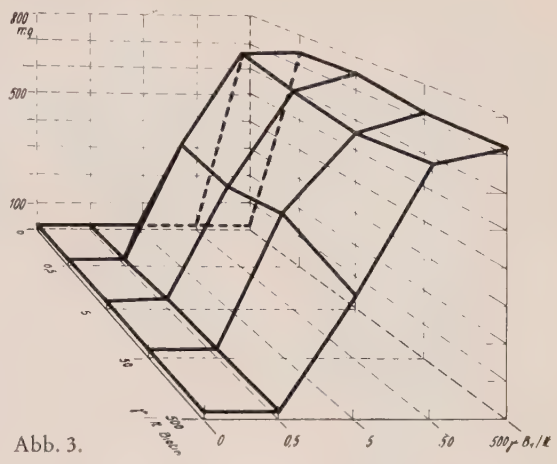


Abb. 3.

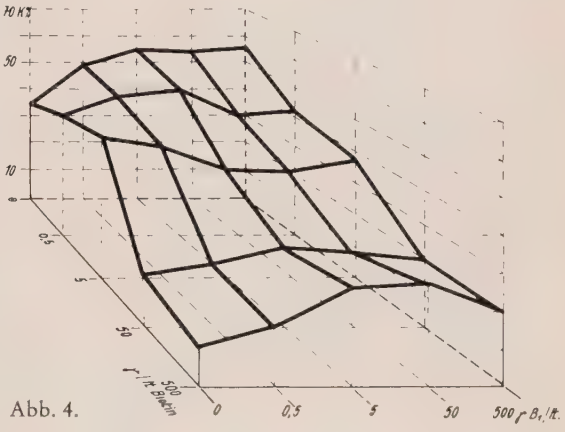


Abb. 4.

Abb. 3. Beeinflussung des Wachstums von *Calonectria graminicola* durch die Vitamine B_1 und Biotin (vgl. dazu Abb. 4)

Abb. 4. Beeinflussung der Pathogenität von *Calonectria graminicola* durch die Vitamine B_1 und Biotin (vgl. dazu Abb. 3)

Tabelle 2

Einfluß von B_1 und Biotin auf Pathogenität (Krankheitsindex K %) und Myzelwachstum (mg) von *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr.

		B_1-Konzentrationen; γ/l								
		0	0,05	0,25	0,5	2,5	5	25	250	500
0,25 γ/l Biotin	K %	34,8	41,6	30,1	46,8	36,8	52,5	49,8	45,6	42,7
	mg	25,3	58,5	46,3	96,8	78,3	113,5	102,8	100,7	125,0
2,5 γ/l Biotin	K %	34,6	35,5	28,5	22,7	22,4	26,9	26,6	24,0	20,0
	mg	9,6	17,0	26,3	60,1	95,2	279,2	255,5	151,3	173,9
25 γ/l Biotin	K %	38,8	30,8	31,8	28,0	18,1	35,2	34,6	22,3	23,1
	mg	44,1	38,8	36,8	49,1	100,0	311,4	284,5	322,6	438,5

nicht infiziert: 5,5 %; Grenzdifferenz (K %): 5 % : 9,4; 1 % : 12,4.

Tabelle 3

Einfluß von B_1 und Biotin auf Pathogenität (Krankheitsindex K %) und Myzelwachstum (mg) von *Calonectria graminicola* (Berk. et Br.) Wr.

	0,5 γ/l B_1		5 γ/l B_1		50 γ/l B_1	
	K %	mg	K %	mg	K %	mg
0 γ/l Biotin	24,5	21,9	30,7	21,9	45,9	757,5
0,05 γ/l Biotin	—	—	38,3	128,2	—	—
0,25 γ/l Biotin	22,2	18,0	42,4	96,5	39,9	754,3
0,5 γ/l Biotin	—	—	40,2	120,7	—	—
2,5 γ/l Biotin	—	—	40,9	117,5	—	—
5 γ/l Biotin	—	—	41,3	113,2	—	—
25 γ/l Biotin	—	—	42,3	137,0	—	—
250 γ/l Biotin	16,1	18,9	21,7	107,0	28,2	655,4
500 γ/l Biotin	—	—	25,2	130,9	—	—

nicht infiziert: 1,8 %; Grenzdifferenz (K %): 5 % : 6,9; 1 % : 9,1.

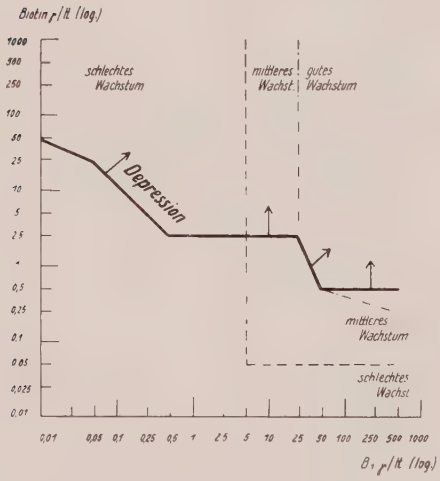


Abb. 5. Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum (mit durchbrochenen Linien abgegrenzte Felder) von *Calonectria graminicola*. Ungefähre Schwellenwerte der eintretenden Depression (Vergleiche innerhalb der Biotinreihen)

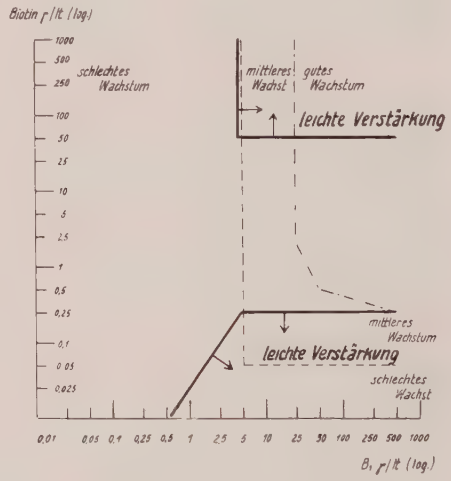


Abb. 6. Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum (mit durchbrochenen Linien abgegrenzte Felder) von *Calonectria graminicola*. Ungefähre Schwellenwerte der eintretenden leichten Verstärkung (Vergleiche innerhalb der B_1-Reihen)

gungen eine Rolle spielen. Die Versuche werden in dieser Richtung weitergeführt, ebenso über den Wirkungsmechanismus, der noch nicht bekannt ist.

Diese Resultate zeigen eindeutig, daß von einem z. B. schlechten Wachstum nicht auf die Pathogenität geschlossen werden kann. Die Umstimmung des Parasiten erfolgt unabhängig vom Wirt, und zwar präinfektionell.

Zusammenfassung

Calonectria graminicola (Berk. et Br.) Wr., ein B_1- und Biotin heterotropher Fußkrankheitserreger von Weizen wurde auf synthetischer Nährlösung mit verschiedenen Zugaben von B_1 und Biotin gezüchtet und sowohl das Wachstum (mg Myzelgewicht) als auch die Pathogenität auf jungen Weizenpflanzen (Krankheitsindizes K %) bestimmt. — Resultate:

1. Steigende Biotingaben verursachten eine Depression der Krankheitsindizes.
2. Steigende B_1-Gaben deuteten eine Verstärkung der Krankheitsindizes an.
3. Irgendein Zusammenhang zwischen Pathogenität und Wachstum ist nicht festzustellen.
4. Die Veränderung der Pathogenität erfolgt bei diesem Beispiel präinfektionell (Umstimmung des Parasiten).

Summary

Upon influencing pathogenicity and growth of plant parasites

II. Vitamin B_1 and Biotin; *Calonectria graminicola*

Calonectria graminicola, a vitamin B_1- and Biotin-heterotrophe root parasite of wheat was grown in synthetic nutrient solution with different doses of B_1 and Biotin. Dry weight of mycelium (mg) and disease indices (K %) were determined. Results:

1. Increased Biotin-content caused a depression of the disease index (fig. 2 and 5).
2. Increased B_1-content showed a light increase of the disease index (fig. 2 and 6).
3. There is no connection between pathogenicity and vegetative growth (fig. 3 and 4).
4. Pathogenicity is changed pre-infectionally.

Literaturverzeichnis

Flück, V., 1955: Untersuchungen über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. — Phytopath. Z. **23** (2), 177—208 (Diss.).

Turel, F. L. M., 1952: Der Einfluß von Aneurin und Zink auf das Wachstum und die Toxinproduktion (*Fusarium solani* [Mart.] App. et Wr.). — Phytopath. Z. **19** (3), 307—342 (Diss.).

Wikén, T. und Richard, O., 1952: Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. III. Mitteilung. — Antonie van Leeuwenhoek **18**, 293—315.

— — und — —, 1953: Untersuchungen über die Physiologie der Weinhefen. IV. Mitteilung. — l. c. **19**, 279—299.

— —, Somm, H. und Sulzer, F., 1954: Untersuchungen über den Wuchsstoffbedarf einiger Kulturweinhefen. — Arch. f. Mikrobiol. **20**, 201—220.

Zogg, H., 1951: Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. — Phytopath. Z. **18** (1), 1—54.

— —, 1956 a: Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum pflanzlicher Parasiten. I. Wirkung der Vorkultur auf verschiedene Fußkrankheitserreger bei Getreide. — Phytopath. Z. **28**.

— —, 1956 b: Über die Beeinflussung von Pathogenität und Wachstum eines pflanzlichen Parasiten durch die Vitamine B_1 und Biotin. — Schweiz. Z. allg. Pathol. u. Bakteriol. **19**, 501—503.

Landwirtschaftliche Kontroll- und Prüfungsanstalt,
Zentralstelle für Kartoffelsortenprüfung, Havlíčkův Brod (Tschechoslowakei)
Agricultural Control and Probatory Institute,
Station for potatoes variety proving, Havlíčkův Brod (Czechoslovakia)

A new method of isolation of Blackleg-pathogens from diseased plants

by

Jarmila Nováková

The potato black-leg is a bacterial disease very much spread about. For detailed study of this disease, there is needed a greater number of isolations of pathogenic bacteria.

There are difficulties about the isolations of the soft-rot and black-leg pathogens, caused by great infection of original material by saprophytic bacteria. The material taken from the field is nearly always already in the later stage of the disease, when the primary pathogens are mixed up with saprophytic bacteria, which alone would not cause the infection.

Therefore raw potato slices in sterilised Petri-dishes are used at the isolations. The pieces of diseased tissue are laid on the surface of a potato slice. By the action of the pathogenic bacteria, the tissue of the slice is beginning to rot in the course of 24 hours. A little portion of the bacteria is taken by the bacteriological needle from the rotten place and dispersed in 10 ml of sterilised water. This solution is diluted once more in the ratio 1 : 10. This dilution is used for inoculation of neutral potato-dextrose agar in Petri-dishes. The colonies appear after 48 hours at 25 ° C. Even when this method is used, there still appears a great number of colonies of saprophytic bacteria, which are very difficult to distinguish from pathogens. Separate colonies must be isolated on agar slants and reproduced. Now three methods are possible:

1) The isolates are once more inoculated in raw potato slices and the appearance of rotting during 48 hours at 25 ° C is taken as a sign of the pathogenity of the isolate. Disadvantages of this method are a great consumption of raw potatoes and of laboratory glass and the relatively long time of the test. A great advantage is an absolute reliability of the test.

2) There are some cultural and biochemical differences between pathogens and saprophytes. The colonies of saprophytes are with regard to those

of pathogens greater, mucous, brightly white and glittering. The biochemical differences in my tests are only: MRT is positive with pathogens and negative with saprophytes, the liquefaction of gelatine is greater and more rapid with saprophytes than with pathogens. These tests can be used only as a completion of the previous method, because the variability of black-leg pathogens in biochemical tests is great as was shown by STANLEY (1938). Therefore they cannot serve as the only criterium for the ability of bacteria to cause infection in living tissue.

3) For rapid and reliable distinguishing of these two groups, the serological drop-method was used, similar to drop method used in plant virology. Its advantage is a momentary identification of bacteria and a small consumption of laboratory glass (only microscopic slices are needed). This method is described in detail, because so far as the author knows, it was not used in any other work dealing with black-leg of potatoes.

The preparation of diagnostic serum. The method was somewhat modified according to STAPP (1928). Two characteristic types of pathogens, which were isolated applying the first method, were chosen. The bacteria were grown on potato-dextrose agar, washed up by sterilised physiological salt solution and the suspension so produced was kept at 60° C during 1½ hour and than stored in closed ampulles in the ice-box. The material so prepared was injected in the ear vein of rabbits in growing doses of 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 ml in intervals of 3—4 days. After the last injection, the rabbit was bled on the 5 th day, the serum was conserved by 1 ml 5 % phenol in 10 ml of serum and stored in the ice-box at 4° C. The serum contained specific antibodies only to *Erwinia atroseptica*. When the serum, diluted 1 : 20, was mixed with bacterial suspensions of *Escherichia coli, Bacillus mycoides, Bacillus subtilis* and with unidentified isolates of saprophytic bacteria (which are always stretched in connection with the black-leg bacteria), no agglutination took place, while the suspension of *Erwinia atroseptica* produced 100 perc. agglutination on the same conditions. The serum titre was 1 : 2560. The serum prepared to two types gave cross agglutinations with other isolates of pathogens. For this reason the serum was used for identification of new isolates.

A drop of serum diluted in the ratio 1 : 20 was put on the microscopic slice with a bacteriological pipette. To this drop were added bacteria by the bacteriological needle directly from the isolated culture on the agar slant and were mixed with the serum. In the case of *Erwinia atroseptica* agglutination visible to unarmed eye was formed in a moment. Clots of agglutinated bacteria were seen under the microscope. With different bacteria the suspension on the slice was regularly clouded, and agglutinated particles were not seen even under the microscope.

Some authors (STANLEY 1939, STAPP 1928) have shown that there are some groups of black-leg pathogens, which differ serologically. That would cause a great disadvantage of this method of identification, because the groups of bacteria, different serologically from the type, to which the serum

was prepared, would not be recognised. Therefore I inoculated 112 isolates, from which 8 isolates gave positive reaction with diagnostic serum, in raw potato slices for proving the pathogenity. Only isolates, which produced agglutination had the ability of rotting potato slices. Therefore I think the drop serological method as suitable for identification of soft rot, black-leg pathogens.

This method is very rapid and reliable and is used with success mostly there, where a greater amount of isolates from contaminated material must be identified, or by isolations of black-leg bacteria from the soil.

Literature cited

Elrod, R. P., 1941: Serological studies of the *Erwineae*. II. Soft rot group, with some biochemical considerations. Botan. Gazette **103**, No. 2.

Kerr, A., 1953: Isolation of soft rot bacteria from soil. Nature **172**, 1155.

Lacey, M., 1926: Studies in bacteriosis XIII. A soft rot of potato tubers due to *Bacillus carotovorus* and a comparison of the cultural and serological behaviour of various organisms causing soft-rots. Ann. of Appl. Biology **13**, 1—11.

Stanley, A. R., 1938: Physiologic and serologic studies of the soft rot and colon group of bacteria. W. Virg. Agr. Exp. Sta. Bull. **287**, 35 p.

Stapp, C., 1928: Die Schwarzbeinigkeit und Knollennaßfäule der Kartoffel. Arbeit. aus der Biol. Reichsanst. f. Land- und Forstwirtsch. **16**, 643—703.

Aus der elektronen-mikroskopischen Abteilung der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Ankara

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Mischinfektionen von *Cucumber* Virus 1 und *Beta* Virus 4 am Spinat in der Türkei

Von

S. Gürtürk, M. Özkan und H. Baskaya

Mit 2 Abbildungen

Um die Ätiologie der Krankheit, die nach unseren Beobachtungen in der Türkei an Paprika- und Spinatpflanzen sehr verbreitet ist und beachtliche Schäden verursacht, zu studieren, wurde das aus den betreffenden Pflanzen entnommene Material mit Hilfe des Elektronenmikroskops untersucht.

Nach Köhler und Klinkowski (4) sind die in West- und Mitteleuropa vornehmlich am Spinat schädigend auftretenden Virusarten das Virus des gewöhnlichen Gurkenmosaiks, das Virus der Vergilbungskrankheit der *Beta*-Rüben und das Virus des Mosaiks der *Beta*-Rüben.

Eine wissenschaftliche Veröffentlichung über die ätiologische Diagnose der Viruskrankheit am Spinat ist in unserem Land bis heute nicht erfolgt.

In dem von M. Özkan am Landwirtschaftsministerium gegebenen Bericht (5) wird mitgeteilt, daß im Jahre 1955 in Istanbul-Pendik und Umgebung an Paprika, Gurken, Tomaten und Kürbis und auch am Spinat nach äußeren Symptomen eine durch das gewöhnliche Gurkenmosaik-Virus (*Cucumber* Virus 1) verursachte Krankheit aufgetreten ist und große Ernteverluste verursacht hat.

Gekennzeichnet sind die mit gewöhnlichem Gurkenmosaik-Virus infizierten Spinatpflanzen nach Köhler und Klinkowski (4) anfangs durch die Gelbfärbung der jungen Blätter, die allmählich auf die ganze Pflanze übergeht. Bei stärkeren Virusstämmen kommt es zu Deformierungen der jungen Blätter, unter Umständen mit schweren Wuchshemmungen und im späteren Stadium zum vorzeitigen Absterben der Pflanze. Nach Bremer (2) färben sich die mit Gurkenmosaik-Virus befallenen Spinatpflanzen gelb und meist zeigen die Blätter Deformierungen. Die Pflanzen wachsen nicht normal und gehen meist zugrunde.

Die Krankheitserscheinungen an den mit Rübenvergilbungsvirus infizierten Spinatpflanzen sind nach KÖHLER und KLINKOWSKI (4) Blattvergilbung, gestauchter Wuchs und Blattdeformierung. Die Blätter sind oft unsymmetrisch und ihre Stiele verdreht. Bei den mit Rübenmosaikvirus befallenen Spinatpflanzen ist das erste Kennzeichen der Krankheit ein Aufwärtswölben der jungen Blätter. Gleichzeitig oder später entstehen bei diesen kleine goldgelbe Flecke von rundlicher oder unregelmäßiger Form. Wenn diese Flecke sehr zahlreich sind, können sie sich vereinigen und es kommt zur mosaikartigen Verfärbung. Im weiteren Stadium stellen die Pflanzen das Wachstum ganz ein. Starke Blattdeformierungen kommen selten zustande. Diese Viren verursachen auch Mischinfektionen, die stärker schädigend wirken.

In den letzten Jahren ist es gelungen, Form und Größe verschiedener Krankheitserreger, die serologisch oder durch Testpflanzen diagnostiert wurden, am besten mit dem Elektronenmikroskop zu bestimmen. Die für die elektronenoptischen Untersuchungen von Pflanzen hergestellten Präparate wurden durch Zentrifugiermethoden oder nach der JOHNSON-Methode (3) vorbereitet. BRANDES und ZIMMER (1) haben gezeigt, daß das Rübenvergilbungsvirus (Beet yellows) an verschiedenen Pflanzen mit Hilfe des Elektronenmikroskops verhältnismäßig einfacher und sicherer diagnostiziert werden kann. SILL, BURGER, STAHMANN und WALKER (6) teilen mit, daß die Partikeln des Gurkenmosaikvirus (*Cucumber* Virus 1) im Elektronenmikroskop zu sehen sind. In den von Tabakblättern hergestellten elektronenmikroskopischen Präparaten liegen diese Partikeln meist in Form von Anhäufungen vor, die von amorpher Substanz eingehüllt sind.

Untersuchungsmaterial und -methoden

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung benutzten wir zwei in Istanbul-Pendik gesammelte Spinatpflanzen. Die Krankheitserscheinungen beider Pflanzen, die in Blumentöpfe mit Erde gebracht wurden, waren zum Teil Blattvergilbung, starke Wuchshemmung besonders bei jungen Blättern und Deformierung fast aller Blätter.

Aus dem genannten Ort wurde das im Winter entnommene Material an das Institut für Gemüsebau und Unkrautforschung der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Neuß (Deutschland) gesandt, um den Erreger mit Hilfe von Testpflanzen zu bestimmen. Für die freundlichen Bemühungen danken wir Herrn Oberregierungsrat Dr. H. BREMER im genannten Institut.

Die elektronenmikroskopischen Präparate wurden nach der Methode JOHNSON (3) und der Zentrifugenmethode vorbereitet. Bei der Methode JOHNSON sind die Präparate durch Injektion von destilliertem Wasser mit Hilfe eines Injektors mit 20 ccm Inhalt hergestellt worden. Bei der zweiten Methode sind die Blätter erst in einer Mischung von sterilem Sand und destilliertem Wasser zerdrückt worden. Nach einer Filtration durch ein Musselintuch wurde 15 Minuten bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert und

dann der Überstand 80 Minuten bei 20 000 Umdrehungen sedimentiert. Dieses Sediment wurde mit der zehnfachen Menge destillierten Wassers verdünnt. Die so vorbereiteten Präparate wurden auf den elektronenmikroskopischen Objektträger aufgetrocknet und dann schräg mit Platin bedampft.

Ergebnisse

Im Institut für Gemüsebau und Unkrautforschung in Neuß wurde die betreffende Virusart als Gurkenmosaikvirus (*Cucumber* Virus 1) nachgewiesen.

In dem nach der JOHNSON-Methode hergestellten Präparat fand man Viruspartikeln mit einer Größe von 40 bis 80 mμ (Abb. 1). Im Zentrifugat konnten gelegentlich stäbchenförmige Virusteilchen mit einer Länge bis 1000 mμ und einer Dicke von 30 bis 40 mμ beobachtet werden (Abb. 2).

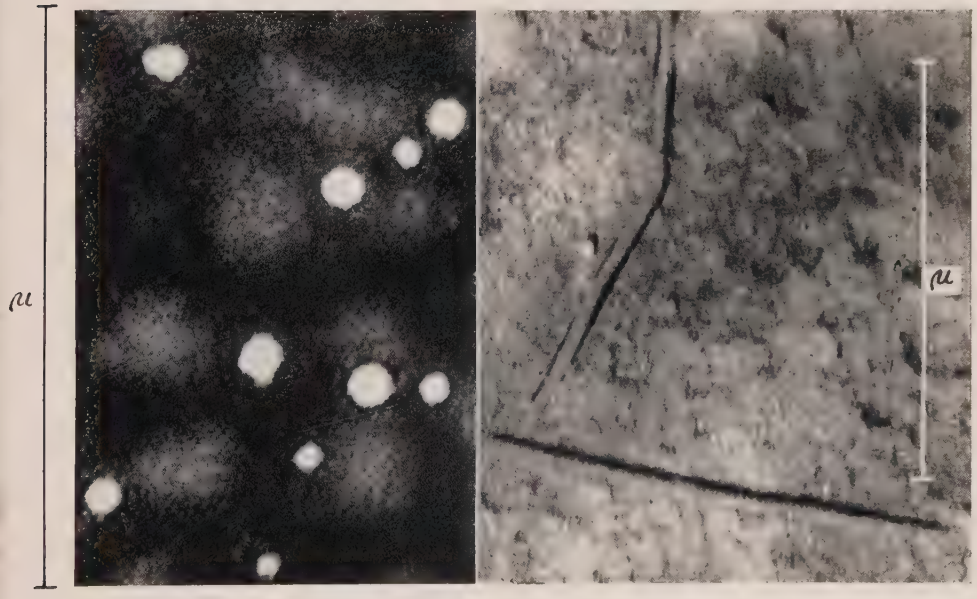


Abb. 1 Abb. 2

Diskussion

Aus der symptomatologischen Feststellung, den Ergebnissen der Infektionsversuche auf Testpflanzen und den elektronenmikroskopischen Untersuchungen kann geschlossen werden, daß die erstmalig in der Türkei am Spinat beobachtete Krankheit die Folge einer Mischinfektion zweier Viren ist.

Die im Elektronenmikroskop gesehenen kleinsten Viruspartikeln (etwa 40 mμ) sind hinsichtlich der Gestalt und Größe mit den von SILL et al. (5) in ihren elektronenmikroskopischen Arbeiten über experimentell infizierte

Tabakpflanzen festgestellten Viren identisch. Bei den von uns auch beobachteten größeren Partikeln (bis 80 mμ) vermuten wir, daß Virusaggregationen oder Vermischungen von Viruspartikeln mit Blattgewebe vorliegen.

Die im Zentrifugat spärlich gesehenen stäbchenförmigen Virusteilchen scheinen hinsichtlich der Gestalt und Größe mit dem von Brandes und Zimmer (4) im Elektronenmikroskop bearbeiteten Vergilbungsvirus der *Beta*-Rüben identisch zu sein. Daß diese Virusart durch Infektionsversuche an Testpflanzen nicht festgestellt werden konnte, könnte ihre Ursache in der zu geringen Konzentration in der erkrankten Pflanze haben.

Zusammenfassung

Durch elektronenmikroskopische Untersuchungen wird gezeigt, daß eine zum erstenmal in der Türkei am Spinat beobachtete Krankheitserscheinung die Folge einer Mischinfektion von *Cucumber* Virus 1 (gewöhnliches Gurkenmosaik) und *Beta* Virus 4 (Beet yellows) ist, wobei die Größe des Gurkenmosaikvirus im Spinat bei 40 bis 80 mμ liegt.

Literaturverzeichnis

1. Brandes, J. und Zimmer, K., 1955: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die viröse Vergilbungskrankheit der Rübe (Beet yellows). Phytopath. Z. **24**, 211—215.
2. Bremer, H., 1956: Hiyar mozayigi virusu. Tomurcuk, Sayi **52**, 7.
3. Johnson, J., 1951: Virus particles in various plant species and tissues. Phytopathology **41**, 78—93.
4. Köhler, E. und Klinkowski, M., 1954: Handbuch der Pflanzenkrankheiten, 6. Auflage, Paul Parey, Berlin u. Hamburg **2**, 283—285.
5. Özkan, M., 1955: Kartal-Pendik sebzelerindeki virus durumu Hakkinda Rapor, Ankara Ziraat Mücadele Enstitüsü 5/9, 1860.
6. Sill, W. H., Burger, W. C., Stahmann, M. A. and Walker, J. C., 1952: Electron Microscopy of *Cucumber* Virus 1. Phytopathology **42**, 420—422.

Aus dem Phytopathologischen Institut der Martin-Luther-Universität Halle—Wittenberg
und der Biologischen Zentralanstalt der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin, Institut für Phytopathologie, Aschersleben
Direktor: Prof. Dr. M. Klinkowski

Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern

II. Das Luzernemosaik- und das *Lamium*-Gelbmosaikvirus

Von

Alice Hein

Mit 21 Abbildungen

Inhalt: I. Das Luzernemosaikvirus — 1. Das Krankheitsbild der Ausgangspflanzen a) Isolierung und Identität verschiedener Isolierungen b) Reproduktion der Symptome bei den Ausgangspflanzenarten — 2. Wirtspflanzenkreis — 3. Möglichkeiten der Übertragung a) Mechanische Übertragung b) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck. c) Insektenübertragung d) Samenübertragung — 4. Eigenschaften des Virus a) Thermale Inaktivierung b) Grenzwert der Verdünnung c) Lebensbeständigkeit in vitro d) Inaktivierung des Virus durch Trocknung der infizierten Pflanze — 5. Prämunität — 6. Systematische Zugehörigkeit der Isolierungen — II. Das *Lamium*-Gelbmosaikvirus — 1. Das Krankheitsbild bei *Lamium purpureum* L. — 2. Möglichkeiten der Übertragung a) Pfropfung b) Mechanische Übertragung c) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck. d) Insektenübertragung e) Samenübertragung — 3. Systematische Zugehörigkeit des Virus — Zusammenfassung — Literaturverzeichnis

I. Das Luzernemosaikvirus

Das Vorkommen des Luzernemosaikvirus in Deutschland ist schon seit mehr als 20 Jahren bekannt (Klinkowski, 1956), wurde jedoch, abgesehen von Bulgarien, als für Europa neu von Oswald, Rozendaal und van der Want (1954) gemeldet. Es ist auch im mitteldeutschen Raum stärker verbreitet, wofür das Auftreten mehrerer in der Literatur bisher nicht erwähnter Wirte unter den Unkräutern spricht. Das Virus wurde isoliert von *Sonchus oleraceus* L., *S. arvensis* L. und *Solanum nigrum* L. Diese Wirte wurden zu einem hohen Prozentsatz infiziert im Versuchsgelände des Institutes in Aschersleben gefunden. Von ihnen ist nur *Sonchus arvensis* perennierend und könnte als Überwinterungswirt des Virus in Frage kommen und als Ausgangsquelle für Frühjahrsinfektionen angesehen werden. Da aber die

Hauptwirtspflanze des Virus, die Luzerne, selbst mehrjährig ist und das Virus zudem einen ausgedehnten Wirtspflanzenkreis besitzt, der auch zahlreiche mehrjährige Arten einschließt, dürften vom wirtschaftlichen Standpunkt Frühjahrsinfektionen von *Sonchus* aus nur wenig ins Gewicht fallen.

Außer den genannten Vorkommen konnten infizierte Pflanzen dieser Arten nicht festgestellt werden. Der von mir beobachtete hohe Anteil mit diesem Virus infizierter Unkräuter wird deshalb als nicht allgemeingültig angesehen werden können, denn Versuchsfelder sind zumeist Orte gehäuften Auftretens von Pflanzenkrankheiten. Auf dem Versuchsgelände selbst wurde zwar keine Luzerne, jedoch Sellerie, der ebenfalls ein natürlicher Wirt des Virus ist (KÖHLER und KLINKOWSKI, 1954), seit mehreren Jahren gebaut. Ein Luzernefeld befand sich in ungefähr 10, bzw. 50, bzw. 200 m Entfernung von den Stellen gehäuften Auftretens der mit dem Luzernemosaikvirus infizierten Unkräuter.

1. Das Krankheitsbild der Ausgangspflanzen

Sonchus oleraceus L. (Isolierung 28):

Anfang August 1953 wurde eine einzelne infizierte Pflanze gefunden, deren Beobachtung nur über eine begrenzte Zeitspanne möglich war.

Abb. 1. *Sonchus oleraceus* L. (Freiland). Photographiert: 3. 8. 1953

Diese Pflanze wies eine sehr deutliche und scharf begrenzte, dunkelgrüne bis fast weißliche Fleckung an allen Blättern auf. Die voll entwickelten Blätter zeigten die Färbung am stärksten, an den jüngeren und kleinen war sie schwächer und diffuser in der Zeichnung. Die einzelnen Flecke waren unterschiedlich groß. Manchmal waren ganze Blattpartien chlorotisch, andere Teile der Blätter wiesen verstreut hellgelbe Flecke auf von mehr oder weniger rundlicher Form. In einzelnen Fällen waren auch unterschiedlich große Kreiszeichnungen in derselben Farbtönung ausgebildet. Die Blätter waren nicht mißgeformt. Die Pflanze blühte normal und setzte Samen an, Wuchsanomalien wies sie nicht auf. Die Symptome änderten sich im Verlauf der Beobachtungszeit kaum,

nur eine stärkere Ausbleichung der vormals gelben Verfärbungen konnte beobachtet werden (Abb. 1).

Sonchus arvensis L. (Isolierung 5):

1953 wurden an einer, im folgenden Jahr an drei Stellen des Versuchsfeldes in Aschersleben auffallend gelb gefleckte *Sonchus arvensis* gefunden. Auch 1955 traten solche Pflanzen an mehreren Stellen auf. Die Fleckung ist bei den einzelnen Pflanzen sehr verschieden hinsichtlich Form und Verteilung bzw. Intensität ihrer Färbung. Sie variiert von einem matten Grün über Gelbgrün bis zum Zitronengelb. Die Symptome bestehen entweder in etwa 1 mm breiten, aufgehellten Bändern, die entlang der Adern oder um einiges von ihnen entfernt verlaufen, teilweise entsteht auch eine Ringfleckung, wobei die Ringe unregelmäßig über die Blattfläche verteilt sind. In anderen Fällen sind die Bänder schmaler und in Schlängel- oder Zickzack-Linien über die Blattflächen gezogen. Es können runde Flecke auftreten von 3 bis 4 mm Durchmesser, oft schließen aber auch Flecke größerer und unregelmäßigerer Form kreisrunde, normal grüne Stellen von etwa 3 mm Durchmesser ein. Die Verfärbungen können scharf gegen das normal gefärbte Gewebe abgegrenzt sein oder diffuser verlaufen (Abb. 2). An jungen Pflanzen sind die Symptome häufig zuerst an der Blattspitze ausgebildet, und die Linien und Kreise sind schmaler, zarter gezeichnet und hellgrün bis gelbgrün gefärbt.

Abb. 2. *Sonchus arvensis* L. (Freiland). Photographiert: 21. 7. 1955

Im Rosettenstadium weisen zumeist alle Blätter einer Pflanze Symptome auf. Sie bleiben auf die grundständigen Blätter beschränkt, werden diffuser und verblassen während des Schossens der Pflanze. Im Blühstadium sind nur noch einzelne der grundständigen Blätter mit diffusen Zeichnungen versehen.

Die Beschränkung der Symptome auf die zuerst das Krankheitsbild zeigenden Blätter wurde auch an Freilandpflanzen beobachtet, die ins Gewächshaus umgesetzt worden waren. Sie zeigten vier Wochen nach dem Umsetzen und guter Weiterentwicklung keine Symptome mehr, da die ältesten Blätter abstarben. Sie enthielten zu diesem Zeitpunkt das Virus noch, wie Abreibungen zu Virginia-Tabak zeigten. Das Virus blieb im Sommer 1954 auf die drei Herde innerhalb des Versuchsfeldes beschränkt. Einer davon

deckte sich mit dem 1953 beobachteten Auftreten. Er war 1,5 × 13 m groß und wies einen gehäuften Gänsedistelbesatz auf, von dem ein größerer Teil als 1953 krank war. Es ergaben sich keine Anhaltspunkte dafür, daß eine Ansteckung innerhalb des Herdes von Pflanze zu Pflanze innerhalb der Vegetationsperiode erfolgte.

Solanum nigrum L. (Isolierung 27):

Ein großer Teil der auf dem Versuchsfeld im Sommer 1953 und 1954 beobachteten *Solanum nigrum* zeigte leuchtend gelbe, häufig auch fast weiße Partien auf seinen Blättern. Die Vergilbungen gingen gelegentlich von der Blattspitze aus, waren aber meistens unregelmäßig verteilt. Sie konnten aus

Abb. 3. *Solanum nigrum* L. (Freiland). Links: Kontrolle, rechts: infiziert mit Luzernemosaikvirus; photographiert: 26. 8. 1954

kleineren diffusen Einzelflecken bestehen, an einigen Blättern erfaßten sie die ganzen Spreiten, an wieder anderen waren einige grüne Inseln ausgespart, die manchmal etwas aufgebeult waren und dadurch eine leichte Aufkräuselung der Blätter bewirkten. Die Größe und die Form der chlorotischen Stellen variierten sehr stark, und zumeist verlief die Abgrenzung zum normal gefärbten Gewebe diffus (Abb. 3). Die Pflanzen erschienen im Vergleich zu offensichtlich nicht infizierten Pflanzen in geringem Maße in ihrem Wachstum beeinträchtigt.

Nur für das an *Sonchus arvensis* beschriebene Symptombild fanden sich Hinweise in der Literatur. KÖHLER (1952 a, 1953) beschrieb ähnliche Zeichnungen und Verfärbungen, und die beigegebene Abbildung ließ den Schluß zu, daß mir das gleiche Virus vorlag, das KÖHLER als vermutlich identisch

mit dem holländischen Rattle-Virus Quanjer bezeichnet. Orientierende Teste in dieser Richtung zeigten jedoch, daß das von mir isolierte Virus nicht mit dem Rattle- oder Stengelbunt-Virus der Holländer identifiziert werden kann. Die Isolierung von Köhler*) rief auf allen geprüften Testpflanzen völlig abweichende und denen der im Institut kultivierten holländischen Rattle-Isolierung sehr ähnliche Symptome hervor. Köhler erwähnt die Übertragbarkeit seines Virus auf *Nicotiana*-Arten, Kartoffeln (*Solanum tuberosum* L.) und *Gomphrena globosa*, hat das Virus jedoch augenscheinlich nicht auf *Sonchus arvensis* zurückübertragen. In einer von mir angesetzten Versuchsreihe konnten 15 im Freiland ausgegrabene junge, gesunde *Sonchus arvensis* mit der Köhlerschen Isolierung nicht infiziert werden.

Ajroldi (1939) konnte ein von *Capsicum* isoliertes Virus, das Kovachevsky (1942) für identisch mit seiner *Capsicum*-Isolierung des Luzernemosaikvirus hält, auf *Solanum nigrum* experimentell übertragen. Eine Beschreibung der Symptome, die dieses Virus auf *Solanum nigrum* hervorruft, lag mir nicht vor.

a) Isolierung und Identität verschiedener Isolierungen

Isolierung 28:

Anfang August 1953 wurde das Virus von *Sonchus oleraceus* durch mechanische Inokulation zu *S. oleraceus* L., *Nicotiana tabacum* L., Sorte Samsun, und *N. glutinosa* L. isoliert. Bis zum Herbst des gleichen Jahres erfolgten zwei weitere Übertragungen von der gleichen Pflanze auf dieselben Testpflanzenarten. *Sonchus* konnte nur bei der ersten Inokulation sicher infiziert werden und zeigte mildere und nicht so ausgedehnte, doch ähnliche Symptome wie die Ausgangspflanze. Die Reaktion der Tabakarten war in allen drei Fällen die gleiche.

Isolierung 5:

Für das im Juni 1953 von *Sonchus arvensis* isolierte Virus wurden im Juli eine, im Sommer 1954 zwei Kontrollisolierungen, vornehmlich auf Tabakarten, vorgenommen. Bei gleichzeitigen Abreibungen mit Preßsaft von offensichtlich gesunden Freilandpflanzen blieben die Testpflanzen ohne Symptome. Die Isolierungen 1953 und 1954 wurden in ihrer Symptomausprägung auf verschiedenen *Nicotiana*-Arten, *Petunia hybrida* Hort., *Capsicum annuum* L., *Phaseolus vulgaris* L. und *Chenopodium quinoa* L. verglichen. Die Pflanzen reagierten stets gleich. Die Isolierungen beider Jahre erwiesen sich somit als identisch.

Isolierung 27:

Die Isolierung eines Virus von *Solanum nigrum* gelang im August 1953 durch Preßsaftinokulation zu *Nicotiana tabacum* L., Sorte Samsun, *Nicotiana glutinosa* L. und *Solanum nigrum* L. Nur die beiden ersten Testpflanzenarten entwickelten Symptome, doch konnte die Identität mit den bereits beschriebenen Isolierungen zunächst nicht festgestellt werden, da in den ersten Test-

*) Zu Vergleichszwecken freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Herrn Reg.-Rat Dr. Bode, Braunschweig.

reihen die Pflanzen nicht mit charakteristischen Symptomen reagierten. Eine Kontrollisolierung (Oktober 1954) gab jedoch die Sicherheit, daß das gleiche Virus vorlag. Auch in diesem Falle wurden die Isolierungen der beiden Jahre auf den gleichen Pflanzenarten, die für die Isolierung 5 angeführt wurden, verglichen und für identisch befunden.

b) Reproduktion der Symptome bei den Ausgangspflanzenarten

Symptome, die eine kranke Pflanze zeigt, und die Isolierung eines Virus von dieser Pflanze besagen noch nicht, daß ein direkter, ursächlicher Zusammenhang besteht. Alle Isolierungen wurden deshalb auf ihren Ausgangswirt zurückübertragen. Die deutliche Ausprägung der ursprünglich beobachteten Symptome war gleichzeitig eine Kontrolle dafür, daß eine Fremdinfektion (Läusezuflug u. a.) nicht vorlag. Preßsaftabreibungen mit den drei Isolierungen auf Primärblätter von *Phaseolus vulgaris* hatten die Ausbildung von Lokalläsionen zur Folge. Preßsäfte aus Lokalläsionengewebe riefen auf Virginia-Tabak das gleiche Krankheitsbild hervor, das die Viren ohne vorherige Passage über *Phaseolus* verursacht hatten. Es war deshalb anzunehmen, daß sie in reiner Form, d. h. ohne Beimischungen von anderen Viren, isoliert worden waren.

Abb. 4. *Sonchus oleraceus* L., experimentell infiziert. a: gehäufte Gelbfleckung im oberen Blattabschnitt, b: schwache Gelbfleckung an der Blattspitze; infiziert: 12. 11. 1954; photographiert: 1. 2. 1955

Isolierung 28:

Bei Versuchen im Sommer 1953 und im Herbst 1954, die Symptome auf *Sonchus oleraceus* experimentell zu reproduzieren, wurden in drei Testreihen insgesamt 20 Pflanzen abgerieben. An zwei, fünf bzw. einer Pflanze jeder Reihe konnten gleiche, doch niemals so generalisierte Symptome wie bei der Ausgangspflanze hervorgerufen werden. Acht bis zehn Wochen nach der Inokulation färbten sich die Adern jüngerer Blätter in kurzen Stricheln diffus hellgrün, und in den Interkostalfeldern mittlerer Blätter traten hellgrüne, rundliche, diffuse Flecke auf. Sie wurden allmählich in der Farbe intensiver, hatten einen Durchmesser von 1,5 bis 2 mm und bildeten in einigen Fällen durch Zusammenfließen größere, leicht diffuse Ringflecke. Die Fleckung trat an einigen Blättern gehäuft auf

(Abb. 4 a), andere wiesen nur einige kleinere aufgehellte Stellen auf (Abb. 4 b). Vereinzelt traten an Spitzenblättern der geschoßten Pflanzen zarte, strichelförmige Aufhellungen in Erscheinung, doch blieben in der Hauptsache die Symptome während der insgesamt dreieinhalb Monate währenden Beobachtungsdauer auf die Stellen ihres ersten Auftretens beschränkt. Alle sich im letzten Drittel der Beobachtungsperiode entwickelnden Blätter blieben frei von irgendwelchen Flecken. Bei Kontrollabreibungen mit Extrakten aus Blättern dieser experimentell infizierten Pflanzen auf *Phaseolus vulgaris* und Virginia-Tabak konnte das Virus wieder nachgewiesen werden. Es ist deshalb anzunehmen, daß durch die für die Wirtspflanze veränderten Umweltbedingungen (Gewächshaus, Anzucht in Töpfen) die Symptome gegenüber denen im Freiland etwas abgewandelt wurden.

Abb. 5. Im Gewächshaus infiziert, später ins Freiland verpflanzt. a: *Sonchus asper* (L.) Hill., infiziert: 14. 1. 1955; photographiert: 21. 7. 1955; b: *Sonchus oleraceus* L.; infiziert: 2. 12. 1954; photographiert: 21. 7. 1955

Sonchus asper, die im Gewächshaus inokuliert und später ins Freiland gepflanzt wurden, entwickelten über alle Blätter die gleichen, leuchtend gefärbten, sehr auffälligen Symptome, die auch die Ausgangspflanze der Isolierung 28 trug (Abb. 5 a).

Isolierung 5:

Diese Isolierung wurde in drei Reihen auf insgesamt 23 *Sonchus oleraceus* verimpft und je einmal auf *S. arvensis* und *S. asper*. Die an *Sonchus oleraceus* beobachteten Symptome entsprachen denen der Isolierung 28. An *Sonchus arvensis* konnten im Gewächshaus etwas intensivere Zeichnungen, als für *S. oleraceus* beschrieben, hervorgerufen werden. Ins Freiland umgepflanzte *Sonchus* aller drei Arten entwickelten die für das Virus charakteristischen Symptome (Abb. 5 b).

Isolierung 27:

In drei Versuchen wurde die Isolierung 1953 auf insgesamt 23 Pflanzen, die Isolierung 1954 in zwei Testreihen zu 16 Pflanzen auf *Solanum nigrum* zurückzuübertragen versucht. Deutliche Anzeichen einer Infektion konnten an keiner dieser Pflanzen bemerkt werden, obwohl die Beobachtungsdauer zum Teil auf mehr als 90 Tage ausgedehnt wurde. Abreibungen auf *Phaseolus*

vulgaris, Sorte Saxa, und *Nicotiana glutinosa* mit Preßsäften, die aus jeweils allen Pflanzen einer Testreihe hergestellt wurden, wiesen in vier der insgesamt fünf Reihen virusinfizierte Pflanzen nach. Nach dem Umsetzen ins Freiland entwickelten die Pflanzen einige gelbe, unspezifische Flecke an ihren Blättern.

Bei Abreibungen von natürlich infizierten Freilandpflanzen auf im Gewächshaus angezogene *Solanum nigrum* konnten die Symptome ebenfalls nicht reproduziert werden.

Alle drei Isolierungen hatten sich in einer Vergleichsabreibung auf einer Reihe von Tabakarten als sehr ähnlich erwiesen. In den Reaktionen auf *Chenopodium quinoa* zeigten sich Unterschiede, die es erforderlich machten, sie vergleichend auf ihre Identität zu prüfen. Alle im folgenden beschriebenen Versuche wurden deshalb möglichst für die drei Isolierungen gleichzeitig angesetzt.

2. Wirtspflanzenkreis

Die im nachfolgenden aufgeführten Pflanzenarten wurden in der Regel in zwei Testreihen zu je fünf bis sieben Pflanzen durch Abreiben zu infizieren versucht. Der zu diesen Abreibungen verwendete Pflanzenpreßsaft stammte von zwei bis drei Wochen vorher infizierten Tabakarten (*Nicotiana glutinosa* und *N. tabacum*, Sorte Virginia). In jeden der Wirtskreisteste wurden drei bis vier Kontrollpflanzen einbezogen, die mit Preßsaft gesunder Tabakpflanzen abgerieben wurden. Rückimpfungen erfolgten zu *Phaseolus vulgaris*, Sorte Saxa, oder Tabakarten. Eine Übersicht über die insgesamt getesteten Pflanzenarten gibt die Tabelle 1.

Die Beschreibung der Symptome erfolgt nur für solche Wirtspflanzen, deren Reaktion für die Identifizierung der Isolierungen ausschlaggebend war, bzw. für solche, auf denen sich die einzelnen Isolierungen unterschieden.

Tabelle 1

Untersuchungen zum Wirtspflanzenkreis der Luzernemosaikvirus-Isolierungen

Testpflanzen	Infektionen * Isolierung			Inkubationszeit ∅ in Tagen	Beobachtungsdauer ∅ in Tagen	Rückinfektion +=pos. −=neg.
	28	5	27			
Chenopodiaceae						
Beta vulgaris L., Sorte Kleinwanzlebener E	1/8	1/8	2/8	15	39	—
Chenopodium quinoa L.	11/16	8/16	13/13	7	32	+
Spinacia oleracea L., Sorte Matador	0/7	0/8			44	—
Amarantaceae						
Amarantus retroflexus L.	0/5	0/11	0/11		81	—
Phytolaccaceae						
Phytolacca decandra L.	?/6	?/7	?/8		36	—
Caryophyllaceae						
Dianthus barbatus L. *atrosanguineus* Dunnetti	0/9				47	—

Tabelle 1

Testpflanzen	Infektionen * Isolierung 28	5	27	Inkubationszeit ∅ in Tagen	Beobachtungsdauer ∅ in Tagen	Rückinfektion +=pos. −=neg.
Leguminosae						
Melilotus albus Med.	0/4	0/4	0/4		75	—
Medicago sativa L.	0/12	0/12	0/12		61	—
Trifolium pratense L.	0/13	0/13	0/9		59	—
Vicia faba L. *minor*	10/10	11/15	15/15	7	33	
Pisum sativum L. Sorte Wunder v. Kelvedon	0/12	0/10	?/17	?	25	?
Soja hispida Moench., Sorte Heimkraft	3/9	2/9	3/9	19	36	+
Phaseolus vulgaris L., Sorte Saxa	16/16	11/11	10/10	3	21	
Euphorbiaceae						
Ricinus communis L.	0/4	0/4	0/4		23	—
Violaceae						
Viola tricolor L.	0/10	0/16	0/10		36	—
Umbelliferae						
Apium graveolens L., Sorte Magdeburger Markt	4/8	5/13	1/8	33	46	+
Convolvulaceae						
Convolvulus tricolor L.	0/2	0/2	0/2		53	—
Polemoniaceae						
Phlox drummondii Hook.	2/2	1/2	2/3	14	77	+
Solanaceae						
Capsicum annuum L.	2/16	9/16	8/16	24	49	+
Solanum tuberosum L.	4/10	3/10	5/10	38	57	+
Lycopersicum esculentum Mill., Sorte Bonner Beste	0/22	0/22	0/22		52	—
Datura stramonium L.	5/9	13/17	7/8	20	33	
Nicotiana rustica L.	6/15	2/5	7/11	12	43	
Nicotiana langsdorffii Weinm.	5/10	7/10	6/10	11	44	
Nicotiana affinis Moore	3/5	5/5	2/5	14	52	
Nicotiana tabacum L., Sorte White Burley	4/10	8/10	7/10	10	40	
Nicotiana tabacum L., Sorte Virginia	5/5	3/5	7/10	6	48	
Nicotiana tabacum L., Sorte Samsun	8/10	6/10	8/10	8	45	
Nicotiana glutinosa L.	8/10	9/10	8/10	4	40	
Petunia hybrida Hort. *alba*	7/7	12/12	10/12	9	27	
Scrophulariaceae						
Antirrhinum majus L.	1/12	1/12	3/12	24	53	+
Cucurbitaceae						
Cucumis sativus L., Sorte Delikatess	2/14	3/10	2/16	21	76	
Campanulaceae						
Campanula persicifolia trachelioides Reichenbach	0/10	0/10	2/10	?	65	+
Compositae						
Callistephus chinensis (L.) Nees, Sorte Deutsche Riesenaster	0/10	0/10	0/10		52	—
Zinnia elegans Jacq.	3/25	9/16	0/9	25	56	+
Calendula arvensis L.	0/5	0/5	0/5		70	—

* Der Nenner bezeichnet die Zahl der inokulierten, der Zähler die der infizierten Testpflanzen

Chenopodium quinoa L.:

Auf diesem Wirt unterschieden sich die drei Isolierungen am deutlichsten. Bei allen übrigen Wirtspflanzen des Virus waren die Variationen in der Symptomausprägung innerhalb einer Isolierung häufig größer als im Vergleich zwischen den Isolierungen. Die von *Sonchus oleraceus* gewonnene verursachte etwa fünf Tage nach der Inokulation auf den abgeriebenen Blättern als Folge einer diffusen, kleinfleckigen, hellgrünen Scheckung die Ausbildung weißlicher, zart gezeichneter nekrotischer Ringe von ungefähr 1 mm Durchmesser. Diese Ringe wiesen nach etwa acht Tagen eine deutliche Zonierung auf, wobei die Innenringe fast stets ganz ausgezogen waren, die äußeren sich aber aus feinen Einzelstricheln zusammensetzten (Abb. 6 c). Zur gleichen Zeit zeigten die Pflanzen Anzeichen einer systemischen Infektion. Die jüngsten Blätter hellten sich vom Blattgrund her auf, zunächst gleichmäßig hellgrün, schon einen Tag später aber mehr fleckig. Zwölf Tage nach der Inokulation traten kleine, hellbraune Nekrosen verstreut an den Stellen der stärksten Aufhellungen auf und hatten eine starke Verdrehung und Verkleinerung dieser Blätter zur Folge. Sie waren auch im Umriß mißgestaltet. Die Blattstiele der älteren Blätter bogen sich auffallend und in engem Bogen nach unten, die Blätter wurden gelb, manchmal rötlich, und starben bald ab. Die letztgenannten Erscheinungen waren bei allen drei Isolierungen zu beobachten, doch waren die oben beschriebenen Reaktionen auf die Isolierung 28 am schwächsten. Die durch die Isolierung 27 verursachten waren wesentlich stärker. Auf den abgeriebenen Blättern entstanden weniger Ringnekrosen als kompakte, häufig sternförmige, nekrotische Flecke von 1 bis 2 mm Durch-

Abb. 6. *Chenopodium quinoa* L., abgeriebene Blätter. a: Isolierung 5, b: Isolierung 27, c: Isolierung 28, d: Kontrolle; infiziert: 6. 4. 1954; photographiert: 16. 4. 1954

messer, und diese Blätter fielen bald ab (Abb. 6 b). Die Krümmungen und Verformungen aller Blätter waren wesentlich stärker, die jüngsten Blättchen waren zum Teil auf eine Größe von 4 mm Länge und 2 mm Breite reduziert, die mittleren zum größten Teil stark zusammengerollt und mit kleinen punktförmigen Nekrosen versehen. Die auffallendste Abweichung von den beiden anderen Isolierungen bestand jedoch darin, daß die Nekrosen an den Blättern,

die dicht um den Vegetationspunkt standen, ausgedehnter waren. Die Blättchen wurden zum Teil ganz nekrotisch, und es griffen stets die Nekrosen auch auf den Vegetationspunkt selbst über. Daher blieben solche Pflanzen wesentlich kleiner und erschienen durch Verkürzung der Internodien buschiger als die Pflanzen, die mit den beiden anderen Isolierungen infiziert worden waren (Abb. 7).

Abb. 7. *Chenopodium quinoa* L. a: Isolierung 5, b: Isolierung 28, c: Isolierung 27, d: Kontrolle; infiziert: 6. 4. 1954; photographiert: 6. 5. 1954

Die Symptome, die die Isolierung 5 verursachte, waren den für die *Sonchus oleraceus*-Isolierung beschriebenen sehr ähnlich, doch trat bei der letzten etwa vier Wochen nach der Inokulation eine Abschwächung im Symptombild auf. Die neu austreibenden Blätter zeigten nur noch eine schwache Mosaikscheckung und geringe Verkleinerung. Diese Erscheinung konnte für die Isolierungen 5 und 27 nicht beobachtet werden. Die Rückübertragung auf *Nicotiana glutinosa* ergab in allen drei Fällen die für diesen Wirt typischen Symptome.

Phytolacca decandra L.:

Nach Price (1940) und Weiss (1945) ist *Phytolacca* mit dem Luzernemosaikvirus infizierbar. In zweimal wiederholten Versuchen mit allen Isolierungen entwickelte der größte Teil der Pflanzen auf den abgeriebenen Blättern größere, weißlich-nekrotische Ringläsionen oder weißliche Nekrosen. Rückinfektion mit Läsionengewebe verlief negativ. Da *Phytolacca*-Preßsaft stark hemmende Wirkung bei Virusübertragungen ausübt (Duggar und Armstrong, 1925; Price, 1940; Bhargava, 1951; Gendron und Kassanis, 1954 u. a.), ist der negative Ausfall der Rückübertragungen vielleicht auf diese Eigenschaft zurückzuführen.

Medicago sativa L.:

Auf Luzerne ließen sich alle drei Isolierungen nicht übertragen, obwohl die Inokulationen im Frühjahr durchgeführt wurden und nach WEIMER (1934) und ZAUMEYER (1938) die Symptome im Frühjahr und Herbst am besten sichtbar sein sollen. KOVACHEVSKY (1942) und OSWALD (1950) erwähnen, daß die von ihnen isolierten Stämme des Virus auch maskiert in Luzerne vorhanden sein konnten. Rückübertragungen auf *Phaseolus vulgaris* und *Nicotiana tabacum,* Sorte Virginia, bewiesen in meinen Untersuchungen, daß das Virus sich in den Luzernepflanzen nicht vermehrt hatte.

Vicia faba L. *minor,* Sorte Dornburger:

Die drei Isolierungen riefen auf *Vicia faba* das gleiche und für das Luzernemosaikvirus typische Symptombild hervor. Drei bis fünf Tage nach der Inokulation erschienen auf den abgeriebenen Blattpaaren braunrote, kompakte, häufiger aber ringförmige Läsionen von 0,5 bis 1,5 mm Durchmesser. Die Ringe konnten einfach oder gezont sein, wobei der äußere Ring meistens etwas diffus verlief (Abb. 8). Die abgeriebenen Blätter starben bald ab. 12 bis 13 Tage nach der Inokulation entwickelten sich gewöhnlich an einem oder zwei der jüngeren Blattpaare ähnliche, an der Blättchenbasis dichter angeordnete Ringflecke. Auch hier traten gewöhnlich Zeichnungen auf, die entweder nahezu farblos, schwach rötlich, manchmal aber braunrot gefärbt waren (Abb. 8). Die Stipeln der betreffenden Blattpaare zeigten die gleichen Symptome. 14 Tage später hatten sich ober- und unterhalb der Ansatzstellen der abgeriebenen Blätter braune, strichelförmige Stengelnekrosen entwickelt, die weniger dicht und weniger intensiv (d. h. diffuser) gefärbt auch am oberen Teil des Stengels zu finden waren. Auch an den Blattstielen und an den Hauptadern traten derartige Strichelnekrosen auf. Zwischen den abgeriebenen und den erkrankten jüngeren Blättern konnten Blattpaare eingeschaltet sein, die kei-

Abb. 8. *Vicia faba* L. *minor.* Oben: Spitzenblätter zweier Pflanzen, inokuliert mit Isolierung 5; unten: abgeriebene Blätter; infiziert: 8. 1. 1955; photographiert: 30. 1. 1955

nerlei Symptome aufwiesen. Etwa vier Wochen nach der Inokulation sich neu entwickelnde Blätter zeigten häufig entweder überhaupt keine Symptome oder nur ein schwaches Hell-Dunkelgrün-Mosaik.

Die Pflanzen wurden durch die Infektion nicht zum Absterben gebracht, wie dies PIERCE (1934) und SMITH (1937) erwähnen und ZAUMEYER (1938) es für seine Stämme 1 A und 1 B angibt. Die Symptome ähneln denen, die letzterer in der gleichen Arbeit für den typischen Stamm beschreibt, obwohl in seinem Falle die Krankheit häufiger auch einen schwereren Verlauf nahm.

Pisum sativum L., Sorte Wunder von Kelvedon:

Bei Erbsen, die mit der Isolierung 27 abgerieben worden waren, zeigte einer der Rückteste der letzten Übertragungsreihe (nach insgesamt neun Inokulationen auf 32 Erbsenpflanzen, die negativ verliefen) auf Virginia-Tabak Symptome, ohne daß an den infizierten Erbsen Anzeichen einer Infektion bemerkbar gewesen wären. Die abgeriebenen Blätter und meistens auch ein Teil der Folgeblätter trockneten fünf bis zehn Tage nach der Inokulation ab. Das ist nach MCWORTHER (1954) häufig die einzige Reaktion auf eine Infektion. Die übrigen zeigten die von ZAUMEYER (1938), WEISS (1945), BERKELEY (1947) u. a. beschriebenen Symptome nicht. Alle Rückteste waren bis auf diesen einen negativ geblieben, so daß hier wohl mit einem Versuchsfehler zu rechnen ist. Die Nichtübertragbarkeit der Isolierungen auf Erbsen spricht nicht gegen die Zuordnung des Virus zur Gruppe des Luzernemosaikvirus. ZAUMEYER und WADE hielten noch 1933 das Virus für nicht auf Erbsen übertragbar, und auch PIERCE (1937) und KLINKOWSKI (1956) gelangen die Infektionen nicht.

Phaseolus vulgaris L., Sorte Saxa:

Zumeist schon zwei Tage nach der Inokulation erschienen auf den abgeriebenen Primärblättern hellbraune, durchscheinende Lokalläsionen, die etwas später rötlichbraun bis braunschwarz wurden und etwa 0,5 mm im Durchmesser groß waren. Die Läsionen vergrößerten sich meistens und waren nach sechs bis acht Tagen 1 bis 1,5 mm groß. In manchen Fällen schlossen sie noch normal grünes Gewebe ein, in den meisten Fällen war das Zentrum pergamentfarben und transparent mit einem dunkelbraunen, manchmal Zonierungen aufweisenden Rand. An Läsionen grenzende oder sie durchschneidende Adern wurden in 0,5 bis 1 cm ihrer Länge rötlich nekrotisch (Abb. 9). Veränderungen an den Sekundärblättern, den Blattstielen oder an den Nodien konnten nicht beobachtet

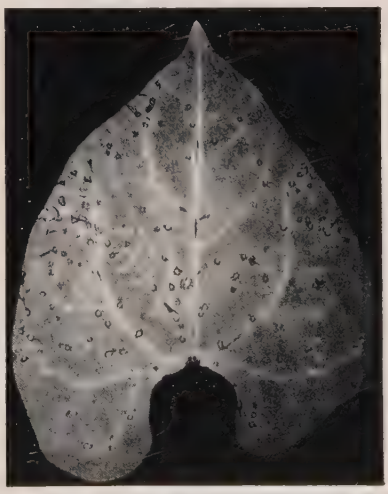


Abb. 9. *Phaseolus vulgaris*, Sorte Saxa, Primärblatt; infiziert: 18. 11. 1954; photographiert: 25. 11. 1954

werden. Sekundärblätter und das normal ausgefärbte Gewebe abgeriebener Primärblätter enthielten das Virus nicht. Die abgeriebenen Blätter wurden vorzeitig abgeworfen, wenn sie zum Zeitpunkt der Inokulation noch nicht voll ausgewachsen waren. Die normale Blattentfaltung wurde durch die zahlreichen Läsionen und Adernnekrosen stark behindert, die Blätter waren verbeult, und mit dem Wachstum vergrößerten sich auch die Läsionen bis auf 3 bis 4 mm. Häufiger kam es an solchen Blättern zu Zerreißungen. Primärblätter, die bei der Abreibung ihre volle Größe erreicht hatten, zeigten kaum Formveränderungen.

Die durch die Isolierung KÖHLER hervorgerufenen Läsionen auf Bohnen-Primärblättern waren wie die des Rattle-Virus nur nadelstichgroß und immer weißlich ohne eine besondere Randverfärbung.

Abb. 10. *Capsicum annuum* L. b bis h: Symptome des Luzernemosaikvirus an verschiedenen Blättern, a: Kontrolle; infiziert: 18. 3. 1955; photographiert: a, b: 6. 4. 1955, c bis h: 28. 4. 1955

Apium graveolens L., Sorte Magdeburger Markt:

SNYDER und RICH (1942) beschreiben die Symptome des Luzernemosaikvirus an Sellerie als ein schwaches bis deutliches Gelb-Grün-Mosaik, das von

einem leichten Blasigwerden der infizierten Blätter begleitet werden kann. Von diesen Erscheinungen konnte ich nur die letztere beobachten. Die Reaktionen auf alle drei Isolierungen waren gleich.

Capsicum annuum L.:

Die Blätter von Paprikapflanzen wurden durch das Abreiben gewöhnlich stark geschädigt. Es traten immer schwärzliche Nekrosen auf, doch keine Erscheinungen, die als Lokalläsionen oder sonstige charakteristische Symptome hätten gedeutet werden können. Drei bis vier Wochen nach der Inokulation wurden an den jüngsten Blättern beiderseits der Adern sich pfeilförmig ausbreitende, flächige, grüngelbliche Aufhellungen sichtbar (Abb. 10 b). Sie waren häufig durch ein diffuses, gelbbraun gefärbtes, bald nekrotisch werdendes Band nach dem noch normal ausgefärbten Gewebe zu abgegrenzt (Abb. 10 c, f). Daneben traten vereinzelt unterschiedlich große, gelblichgrüne, zumeist rundliche Flecke regellos über die Blattfläche verteilt auf. Diese Flecke konnten deutlich abgegrenzt sein und klar gezeichnete Zonierung erkennen lassen, in den weitaus meisten Fällen verliefen ihre Ränder jedoch diffus (Abb. 10 b, d). Durch unterschiedliches Wachstum der normalen und der erkrankten Gewebepartien waren alle jüngeren Blätter stark gekräuselt (Abb. 10 g, h). Etwas später erschienen auch an den voll ausgewachsenen Blättern ähnliche Symptome, häufig auch von ausgedehnteren schokoladenfarbenen Nekrosen begleitet. Auf diesen älteren Blättern waren die Aufhellungen entlang der Adern gelegentlich sehr deutlich gezont.

Nur vereinzelt wurden die jüngsten Blätter völlig nekrotisch oder starben ältere Blätter ab. Die Wuchsstauchungen waren gegenüber den Kontrollen trotz der relativ schweren Symptome nur gering.

Solanum tuberosum L. (aus Samen gezogen):

Kartoffelsämlinge konnten verhältnismäßig leicht infiziert werden. Primärsymptome entwikkelten sich nicht. Die systemischen Symptome erschienen nach ungefähr drei Wochen als ein hellgrün-normalgrünes, großfleckiges Mosaik an den jüngsten Blattfiedern. In den aufgehellten Partien verschwand binnen kurzer Zeit das Chlorophyll, und die Fleckung wurde leuchtend gelb (Abb. 11). Weitere Unterschiede zu den Kontrollen bestanden nicht. Aus Augenstecklingen angezogene Pflanzen

Abb. 11. *Solanum tuberosum* L. Links: Kontrolle; rechts: Luzernemosaik-infiziert; infiziert: 2. 5. 1955; photographiert: 16. 6. 1955

der Sorte „Aquila" entwickelten nach der Infektion gleiche Symptome, jedoch trat keine Umfärbung der Aufhellungen zu Gelb ein.

Nicotiana tabacum L., Sorte Samsun:

Alle getesteten Tabakarten reagierten ähnlich auf eine Infektion (Abb. 12 bis 16), die Intensität der Symptomausprägung war stark saisonabhängig. Am deutlichsten war sie im Herbst. Drei Tage nach der Inokulation entstanden auf den abgeriebenen Blättern zahlreiche 2 bis 4 mm große, zumeist hellgrüne, später gelbe, diffuse Flecke. Ein oder zwei Tage später zeigte sich eine deutliche und sehr klare Zonierung dieser Flecke, so daß die Blätter mit einem mehr oder weniger dichten Ringmuster bedeckt waren (Abb. 12, 13, 15, 16). Häufig wurden die am stärksten aufgehellten Ringe weißlich-nekrotisch.

Abb. 12. *Nicotiana tabacum* L., Sorte Samsun. Links: abgeriebenes Blatt; rechts: Folgeblatt; infiziert: 7. 10. 1953; photographiert: 23. 10. 1953

Fünf Tage nach der Inokulation waren die ersten systemischen Symptome an den jüngsten Blättern sichtbar. Die Adern hellten sich diffus und gleichmäßig auf, und ein bis zwei Tage später bedeckte eine gleichmäßige, deutliche Mäanderbandzeichnung die Spitzenblätter (Abb. 12). Diese Zeichnung wurde hervorgerufen durch eine mehrfach gezonte Adernbänderung, die alle Adern gleichmäßig erfaßte. Nur gelegentlich traten auch an den Folgeblättern Nekrosen auf. Schon etwa drei Wochen nach der Inokulation wurden die Zeichnungen diffus, alle neu sich entwickelnden Blätter blieben bis auf einige gelbliche diffuse Flecke frei von Symptomen. Die älteren Blätter bekamen wieder ein gleichmäßig grünes Aussehen, und in der vierten Woche nach der Inokulation erschienen die Pflanzen gewöhnlich wieder gesund. Diese

allmähliche „Gesundung" infizierter Pflanzen ist bekannt für die Wirte des Luzernemosaik-, aber auch für die des Tabakringfleckigkeitsvirus. Die Art der Primärsymptome und der gesamte Symptomverlauf an Tabak weckten zuerst die Vorstellung, daß die vorliegenden drei Isolierungen in die Gruppe der Tabakringfleckigkeitsviren gehörten. In der Literatur sind die Symptombeschreibungen für dieses und das Luzernemosaikvirus, soweit es die Tabakarten betrifft, sehr ähnlich. Die Beobachtung an anderen Wirtspflanzen, besonders die Reaktionen, die *Phaseolus vulgaris* auf eine Infektion zeigte, und vergleichende Abreibungen mit dem Bukett-C-Virus Köhler*) (= Tabakringfleckigkeitsvirus, Köhler, 1952 b), machten ihre Zuordnung in die Gruppe des Luzernemosaiks sicher.

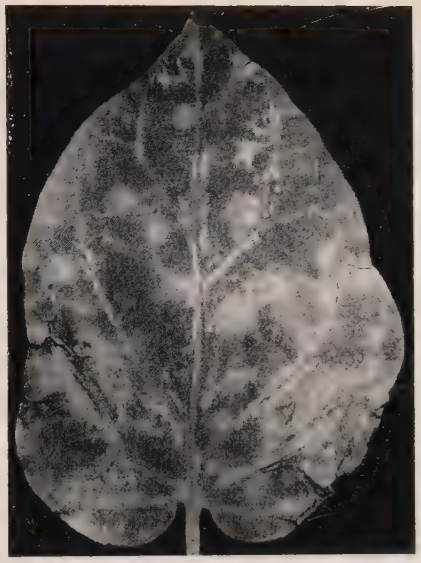


Abb. 13. *Nicotiana glutinosa* L., abgeriebenes Blatt; infiziert: 30. 10. 1954; photographiert: 10. 11. 1954

Die Symptome an allen Tabakarten waren im Sommerhalbjahr wesentlich undeutlicher ausgeprägt als oben beschrieben. In den heißen Monaten waren Infektionen nur schwer zu erzielen, bzw. waren sie vollständig maskiert.

Abb. 14. *Nicotiana glutinosa* L.; infiziert: 11. 2. 1954; photographiert: 25. 2. 1954

Nicotiana glutinosa L.:

Die Symptome auf den abgeriebenen Blättern variierten beträchtlich, manchmal fehlten sie ganz. Häufig traten sechs bis sieben Tage nach der Inokulation auf den abgeriebenen Blättern hellgelbe, diffus gezonte, etwa 3 bis 4 mm große Flecke in ziemlich gleichmäßiger Verteilung auf (Abb. 13). Diese Initialsymptome entwickelten sich zu konzentrisch gezonten Ringnekrosen. Wenige Tage darauf

*) Für die Überlassung des Stammes zu Vergleichszwecken bin ich Herrn Reg.-Rat Dr. Bode, Braunschweig, zu Dank verpflichtet.

Abb. 15. *Nicotiana tabacum* L., Sorte Virginia. Links: abgeriebenes Blatt; rechts: Folgeblatt; infiziert: 7. 10. 1953; photographiert: 23. 10. 1953

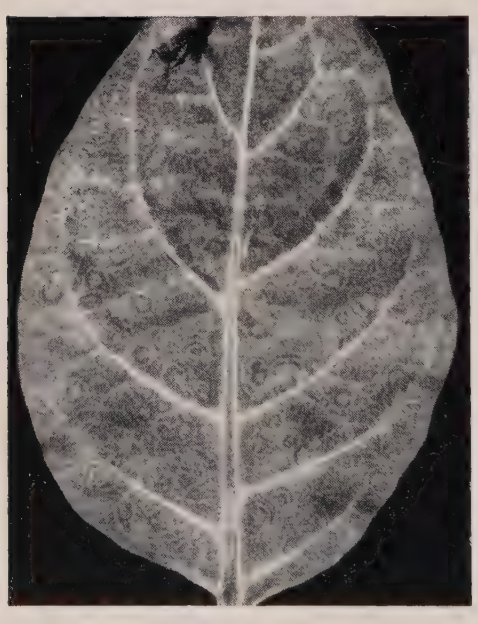


Abb. 16. *Nicotiana rustica* L., abgeriebenes Blatt; infiziert: 7. 10. 1953; photographiert: 23. 10. 1953

hellten sich die Adern an den jüngsten Blättern netzartig auf. Aus der Adernaufhellung entwickelte sich eine dichte, relativ kleinscheckige Mosaikfleckung, die zuerst die jüngsten Blätter völlig überzog und dann auch auf die ausgewachsenen Blätter vom Blattgrund her zunächst entlang der Adern, dann eine ziemlich gerade Front bildend, nach der Spitze zu fortschreitend, übergriff. Häufig traten an diesen Blättern in der Frontlinie zu dem noch normalen Gewebe, etwa 2 cm breit, kleine graubräunliche Nekrosen auf, die auch auf der Blattunterseite sichtbar wurden, dort aber farblos transparent erschienen. Infolge der Mosaikscheckung und der kleinen Nekrosen waren die Blattspreiten, besonders die der jüngeren Blätter, ziemlich stark gekräu-

selt (Abb. 14). Von der vierten Woche ab setzte eine Abschwächung der Symptome an den jüngeren Blättern ein. Kleine hellgrüne bis weißliche Flecke waren dann als einzige Anomalien an den Blattspitzen der mittleren Blätter angehäuft und ließen diese hellgrün erscheinen. Die neu austreibenden Blätter zeigten keinerlei Symptome mehr oder nur noch eine sehr schwache, diffuse Scheckung.

Petunia hybrida Hort. *alba:*

Etwa sieben Tage nach der Inokulation zeigten die abgeriebenen Blätter sehr dicht angeordnete, diffuse, helle Flecke von ungefähr 1 bis 2 mm Durchmesser, die drei Tage später dunkelgrüne Zonierungen aufwiesen. Zwölf Tage nach der Abreibung waren diese Flecke von feinen nekrotischen Kreisen umzogen, und wenig später wurde das Zentrum der Läsionen in einem kleinen Punkt nekrotisch, so daß einfache aber auch mehrfach gezonte Ringnekrosen entstanden (Abb. 17, oben). An den jüngeren, vor allem an den jüngsten Blättern traten zu diesem Zeitpunkt sehr deutliche, am Blattrand beginnende Adernaufhellungen auf, ein helles Netz bildend. Die Interkostalfelder, die noch

Abb. 17. *Petunia hybrida* Hort. *alba.* Oben: abgeriebene Blätter; Mitte: systemisch infizierte, ausgewachsene Blätter; infiziert: 29. 10. 1954; a, d: Isolierung 5; b, e: Kontrollen; c, f: Isolierung 28; photographiert: 13. 11. 1954; unten: Spitzenblätter; g: Isolierung 28; h: Kontrolle; i: Isolierung 5; infiziert: 29. 10. 1954; photographiert: 3. 12. 1954

normal ausgefärbt waren, beulten sich etwas nach oben. Später erschienen die Folgeblätter, mehr oder weniger gleichmäßig, schwach aufgehellt. An den älteren Folgeblättern traten Nekrosen, beidseitig die Adern nachzeichnend, auf (Abb. 17, Mitte), und später starben größere Zonen ab. An den jüngeren und jüngsten Blättern, die von den Nekrosen noch nicht erfaßt waren, waren größere Teile der Blattspreiten weißlichgrün bis hellgrüngelblich und relativ scharf begrenzt aufgehellt. In einigen Fällen waren die Aufhellungen mehr auf die Zonen beiderseits der Adern beschränkt, bei manchen Blättern mehr auf die Blattränder (Abb. 17, unten). Wachstumsbeeinträchtigungen waren bei den Gewächshausinfektionen nicht feststellbar, wohl aber eine Blühverzögerung um etwa vier Wochen gegenüber nichtinfizierten Pflanzen.

Cucumis sativus L., Sorte Delikatess:

Bei Aufreibung des Preßsaftes auf die Kotyledonen bei noch nicht entfaltetem ersten Laubblatt entstanden wenige Tage nach der Infektion zunächst gelblichdiffuse Flecke, die etwas kleiner waren als die Initialläsionen bei Gurkenmosaik - Infektionen. Die Aufhellungen bekamen bald ein nekrotisches Zentrum und wurden allmählich gelb bis weißlich. Die Kotyledonen starben gewöhnlich nicht ab. Etwa drei Wochen nach der Inokulation begannen die Adern höherer Ordnung an den Folgeblättern sich in größeren Partien schwach und dann allmählich intensiver aufzuhellen (Abb. 18). Es traten daneben in den Interkostalfeldern auch kleine, helle Kreiszeichnungen auf. Die jüngsten Blätter waren dadurch etwas verbeult und mißgeformt. Alle Blätter wiesen in der Folge die gleichen Symptome auf, sie blieben kleiner, die Internodien waren etwas verkürzt. Das Symptombild entspricht dem von ZAUMEYER (1938) für seine Luzernemosaikvirusstämme 1 A und 1 B an Gurken beschriebenen.

Abb. 18. *Cucumis sativus* L., Sorte Delikatess. Infiziert: 10. 3. 1955; photographiert: 20. 4. 1955

3. Möglichkeiten der Übertragung

a) Mechanische Übertragung

Die Isolierungen waren leicht durch Preßsaftverreibung zu übertragen. Wie bei HANSON und HAGEDORN (1954) wurde auch in den vorliegenden Untersuchungen kein deutlicher Unterschied in der Infektiosität der Preßsäfte festgestellt, wenn sie von verschiedenen Pflanzen stammten. Bei den gewöhn-

lichen Übertragungen (1 : 1-Verdünnung des Preßsaftes mit n/100 Na_2SO_3-Lösung) wurden zu allen Jahreszeiten die Testpflanzen nahezu 100%ig infiziert. Anders war es in den Versuchen zur Feststellung der Eigenschaften des Virus im Preßsaft. Hier waren nach den verschiedenen Behandlungen im Hochsommer kaum Infektionen zu erzielen. Die infizierten Pflanzen maskierten die Symptome auch wesentlich schneller und vollkommener als zu anderen Zeiten des Jahres. Die Inkubationszeiten waren bei den verschienen Wirtspflanzen unterschiedlich lang. Sie sind im einzelnen in Tabelle 1 angeführt.

b) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck.

Nach Kreitlow und Price (1949) kann *Marmor medicaginis* H. var. *ladino* durch Seide nicht übertragen werden. Schmelzer (1956) konnte das Luzernemosaikvirus in seinen Arbeiten am hiesigen Institut mit Hilfe von *Cuscuta campestris* nur im Frühjahr in geringen Prozentsätzen, in den Sommermonaten kaum übertragen. In drei Versuchen konnte die Isolierung 28 mit der gleichen Seideart nicht in gesunde Tabakpflanzen eingebracht werden.

c) Insektenübertragung

Weimer (1934) übertrug den typischen Stamm durch *Acyrthosiphon onobrychis* B. d. F. (= *Macrosiphon pisi* Kalt.). Der Kartoffel-calico-Stamm kann durch *Macrosiphon solanifolii* Ashm. übertragen werden (Porter, 1935) und der Tuber-necrosis-Stamm der Kartoffel durch *Myzus persicae* Sulz. (Oswald, 1950). Kovachevsky (1942) konnte seine Isolierung des Virus in einem von drei Versuchen mit dem gleichen Vektor übertragen. Swenson stellte 1952 *Doralina gossypii* Glov. (= *Aphis gossypii* Glov.), *Doralida leguminosae* Theob. (= *Aphis medicaginis* Koch) und *Doralis fabae* Scop. (= *Aphis fabae* Scop.) zusätzlich als Überträger des Virus, speziell für einen Ladino-clover-Stamm, fest.

Ich verwendete in meinen Übertragungsversuchen *Macrosiphon solanifolii* Ashm., *Myzus persicae* Sulz. und *Neomyzus circumflexus* Buckt. Für alle drei Isolierungen wurde jede der genannten Aphidenarten dreimal auf ihre Vektoreigenschaften geprüft, wobei zweimal *Petunia hybrida alba* und das dritte Mal *Datura stramonium* als Infektionsquellen und Testpflanzen gewählt wurden. Die Infektionssaugzeit betrug in allen Versuchen nach zweistündigem Hungern vier Stunden, die Testsaugzeit 24 Stunden. In keiner der Versuchsreihen konnten die Testpflanzen infiziert werden. *Hyperomyzus pallidus* HRL.*), die sich in kleinen Kolonien an kranken *Sonchus arvensis* im Freiland anfand, infizierte nicht, auch wenn sie 24 Stunden an gesunde *S. oleraceus* angesetzt wurde.

d) Samenübertragung

Um einen weiteren Beweis dafür zu erhalten, daß es sich bei den vorliegenden Isolierungen nicht um das Ringflecken-Mosaikvirus an Tabak han-

*) Für die Bestimmung danke ich Herrn Dr. F. P. Müller, Rostock.

delt, wurde die Möglichkeit der Übertragung des Virus durch Petuniensamen eingehend geprüft. HENDERSON hatte 1931 gefunden, daß das Tabakringfleckenmosaik zu 19,8 % in Samen infizierter Petunien überlebt.

Von experimentell mit den drei Isolierungen des Luzernemosaikvirus infizierten Petunien waren Samen geerntet und wie bei HENDERSON nach einer Nachreife ausgesät worden. 1069 Pflanzen wurden angezogen, keine zeigte irgendwelche Anomalien.

Die Verhältnisse konnten jedoch auch ohne die Annahme, daß es sich bei den Unkräutern um ringspot-Infektionen handele, für diese wesentlich anders liegen. Zudem würde sich, wären Viruskrankheiten an einzelnen Unkräutern auch mit dem Samen dieser Pflanzen übertragbar, deren epidemiologische Bedeutung für die betreffenden Krankheiten erheblich vergrößern. Aus Samen von *Sonchus oleraceus,* die mit den Isolierungen 5 und 28 infiziert worden waren, liefen 319 Pflanzen auf. Sie zeigten keine Anomalien. Aus Samen natürlich infizierter *Solanum nigrum* wurden 91 gesunde Pflanzen aufgezogen. — Nach WEIMER (1934) und PIERCE (1934) ist das Luzernemosaikvirus nicht durch den Samen übertragbar. Auch KREITLOW und PRICE (1949) vermuteten, daß eine Samenübertragung nicht erfolgt.

Experimentell konnten die vorliegenden Isolierungen also nur mechanisch übertragen werden.

4. Eigenschaften des Virus

Als Virusquelle und als Testpflanze wurde in den nachfolgend beschriebenen Versuchen ausschließlich *Nicotiana tabacum,* Sorte Virginia, gewählt. Diese Sorte reagierte empfindlicher als die übrigen getesteten Tabakarten, wenn sie auch in den Sommermonaten mit nur geringem Erfolg verwendet werden konnte. Die in der Literatur angegebenen Daten wurden zumeist mit *Phaseolus vulgaris* als Testpflanze erhalten (PIERCE, 1934; ZAUMEYER und WADE, 1935; ZAUMEYER, 1938 u. a.). Da Buschbohnen schon nach zwei bis drei Tagen deutliche Reaktionen zeigen, hat ihre Verwendung Vorteile. Sie reagieren jedoch, vor allem bei der Austestung von Preßsaftverdünnungen, wesentlich weniger empfindlich als Tabak. Die von mir angegebenen Daten für die Inaktivierung bei Verdünnung liegen deshalb höher als die in der Literatur angeführten.

Die methodische Durchführung der in diesem Abschnitt dargestellten Versuche war die gleiche, wie für das *Malva*-Virus beschrieben (HEIN, 1956). Ein Einfrieren der auszupressenden Pflanzen war hier jedoch nicht notwendig, es wurde immer der frische Preßsaft den jeweiligen Behandlungen unterworfen. Für die Prüfungen der Lebensbeständigkeit des Virus in vitro wurde unverdünnter Preßsaft verwendet, bei der Prüfung der thermalen Inaktivierung erfolgte eine Verdünnung des Inokulums mit Leitungswasser im Verhältnis 1 : 1. 12 bis 14 Tage vorher infizierter Tabak diente zur Preßsaftherstellung, da nach ROSS (1941) in dieser Zeitspanne (zwölf Tage nach der Inokulation) der höchste Virusgehalt in den Pflanzen zu erwarten war.

a) Thermale Inaktivierung

Die Versuche zur Feststellung der thermalen Inaktivierung des Virus wurden zum Teil elfmal wiederholt, doch waren die Infektionsergebnisse, da der größte Teil der Wiederholungen in den Sommermonaten durchgeführt werden mußte, sehr unterschiedlich und die Reihen häufig nicht auszuwerten. Auch in den von mir durchgeführten Untersuchungen bestätigte sich demnach die von ZAUMEYER und WADE (1935) u. a. erwähnte Erfahrung der Maskierung der Symptome bei hohen Temperaturen. In die Tabelle 2 wurden nur je zwei Versuchsreihen aufgenommen. Danach werden alle drei Isolierungen zwischen 62 und 64 ° C/10 min inaktiviert. Diese Ergebnisse stimmen überein mit den für den typischen Stamm bekannten und auch mit den für die meisten anderen in der Literatur angegebenen Stämme und Isolierungen angeführten Daten (PIERCE, 1934; ZAUMEYER und WADE, 1935; BERKELEY, 1947; KREITLOW und PRICE, 1949; KLINKOWSKI, 1956).

Tabelle 2

Feststellung der thermalen Inaktivierung
(Summe aus zwei Versuchsreihen)

° C/10 min	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung		
		28	5	27
Kontrolle	6	6	6	6
60	20	15	10	9
61	20	7	11	8
62	20	7	7	1
63	20	0	1	3
64	10	0	0	0
65	20	0	0	0

Ein Unterschied zwischen den drei Isolierungen bezüglich der thermalen Inaktivierung besteht offensichtlich nicht, da ein Schwanken des Endpunktes um 1 bis 2 ° C innerhalb des möglichen Fehlerbereiches liegt.

b) Grenzwert der Verdünnung

In Vorversuchen war festgestellt worden, daß bei Verwendung von Tabakarten als Testpflanzen der Grenzwert der Verdünnung wesentlich höher liegt, als für das Virus in der Literatur angegeben wird. Während nach diesen Angaben der Verdünnungsendpunkt bei 1 : 2000 bis 1 : 3000 liegt (ZAUMEYER und WADE, 1935; ZAUMEYER, 1938), erhielt ich noch Infektionen bei 1 : 100 000, wie die Tabelle 3 angibt. Allerdings muß hier hinzugefügt werden, daß KLINKOWSKI (1956) die Verdünnungsgrenze bei 1 : 2048 liegend fand, wenn er zu *Nicotiana tabacum* var. Samsun Bashi bagli verimpfte.

Der Grenzwert der Verdünnung liegt demnach für die drei Isolierungen zwischen 1 : 100 000 und 1 : 500 000, wobei die Abweichung der Isolierung 5 nicht als Kriterium für eine Unterscheidung angesehen werden kann. Auch

die anderen Isolierungen gaben in den einzelnen Versuchsreihen sehr unterschiedliche Ergebnisse.

Tabelle 3

Grenzwert der Verdünnung bei Verwendung von *Nicotiana tabacum* L., Sorte Virginia, als Testpflanze

(Summe aus zwei Versuchsreihen)

Verdünnungsstufe	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung		
		28	5	27
1 : 1	6	6	6	4
1 : 10000	20	9	2	4
1 : 50000	20	4	1	2
1 : 100000	20	1	0	1
1 : 500000	20	0	0	0

Die Diskrepanz zu den Daten der Literatur kann nur erklärt werden mit der unterschiedlichen Empfindlichkeit der verwendeten Testpflanzen. Auf *Phaseolus vulgaris* L., Sorte Saxa, ergaben sich in verschiedenen Verdünnungsstufen in einigen Vergleichsabreibungen auf Primärblätter folgende Läsionenzahlen (siehe Tabelle 4). Der Endpunkt der Verdünnungsfähigkeit müßte nach diesen Ergebnissen als wenig oberhalb 1 : 1000 liegend angenommen werden und steht damit annähernd in Übereinstimmung mit den in der Literatur genannten Werten (PIERCE, 1934).

Tabelle 4

Grenzwert der Verdünnung bei Verwendung von *Phaseolus vulgaris* L., Sorte Saxa, als Testpflanze

(Isolierung 28)

Verdünnung	Zahl der Blätter	Zahl der Lokalläsionen Wiederholung			
		1	2	3	4
1 : 1	4	9	330	—	112
1 : 10	6	4	212	130	32
1 : 100	8	0	36	0	2
1 : 1000	10	0	1	0	5
1 : 10000	12	—	—	—	0

c) Lebensbeständigkeit in vitro

Beim Alternlassen des Preßsaftes fand PIERCE (1934) eine Inaktivierung des Virus nach sieben bis neun Tagen, bei ZAUMEYER und WADE (1935) war nach drei bis vier Tagen, in einer anderen Untersuchung von ZAUMEYER (1938) nach vier bis fünf Tagen der Preßsaft nicht mehr infektiös. In den vorliegenden Untersuchungen wurden, wie die Tabelle 5 zeigt, die verschiedenen Isolierungen nach sieben bis acht Tagen bei Zimmertemperatur (im Durchschnitt aller Reihen 22 ° C) inaktiviert.

Nach Ross und Stanley (1940) kann extrahierter Saft von Luzernemosaik-infizierten Pflanzen ohne merkliche Beeinträchtigung seiner Aktivität eingefroren werden. Wie die Tabelle 5 angibt, konnten auch hier die Preßsäfte länger als 30 Tage bei Minustemperaturen, ohne eine starke Minderung der Aktivität des Virus, gehalten werden.

Tabelle 5

Inaktivierung in vitro

Alterung in Tagen	Zahl der Testpflanzen	Zimmertemperatur: Zahl der infizierten Pflanzen			Alterung in Tagen	Zahl der Testpflanzen	Minus-Temperatur: Zahl der infizierten Pflanzen		
		28	5	27			28	5	27
0	9	9	9	9	0	3	3	3	3
6	30	3	8	1	15	5	5	4	5
7	30	4	8	4	20	6	6	6	6
8	30	0	0	1	25	7	7	5	4
					30	10	5	2	5

d) Inaktivierung des Virus durch Trocknung der infizierten Pflanze

Für die Inaktivierung bei Trocknung der infizierten Pflanze waren in der Literatur keine Angaben zu finden, anscheinend sind derartige Untersuchungen noch nicht durchgeführt worden. In einer Versuchsreihe konnten noch nach 100 Tagen Trocknung alle Testpflanzen durch alle Isolierungen 100%ig infiziert werden (Tabelle 6). Die Inaktivierung zwischen 100 und 150 Tagen kann an Hand eines Versuches nicht als gesichert angesehen werden, da die Inokulation nach 150 Tagen in der Mitte des Monats Juli durchgeführt werden mußte und eine Täuschung durch Maskierung der Symptome vorliegen kann.

Tabelle 6

Inaktivierung durch Trocknung der infizierten Pflanze

Dauer der Trocknung in Tagen	Zahl der Testpflanzen	Zahl der infizierten Pflanzen Isolierung		
		28	5	27
0	3	3	3	3
60	10	10	10	10
80	10	10	10	10
100	10	10	10	10
150	10	0	0	0

Eine höhere Empfindlichkeit des Virus der Isolierung 28 könnte aus den in Tabelle 2 (thermale Inaktivierung) und Tabelle 5 (Alterung bei Zimmertemperatur) zusammengestellten Ergebnissen geschlossen werden. Dem stehen jedoch die Zahl der Infektionen entgegen, die in den verschiedenen Verdün-

nungsstufen für die einzelnen Isolierungen erhalten wurden. Insgesamt sind die Unterschiede zwischen ihnen und gegenüber dem typischen Stamm beträchtlich geringer, als sie z. B. von ZAUMEYER (1938) für seine drei Stämme (1, 1 A und 1 B) angegeben werden. Sie sind zu gering, als daß sie einen Anhaltspunkt zur Unterscheidung der Isolierungen geben würden oder ihre Bezeichnung als einzelne Stämme des Luzernemosaikvirus rechtfertigen könnten.

5. Prämunität

Die drei Isolierungen des Luzernemosaikvirus wurden in drei Versuchsreihen auf ihre gegenseitige Schutzwirkung geprüft. Zu diesem Zweck wurden zehn Pflanzen mit je einer Isolierung abgerieben und vier bis fünf Wochen später, nachdem die Pflanzen wieder „gesundet" waren, wurden zu jeweils drei dieser Reihe eine der übrigen Isolierungen inokuliert. Eine Pflanze jeder Reihe blieb als Kontrollpflanze, und gleichzeitig mit der zweiten Inokulation wurden für jede Isolierung drei gesunde, gleichaltrige Pflanzen als Kontrollen dieser Abreibung infiziert. Nur in einer dieser Versuchsreihen wurde der Test auf insgesamt 16 Pflanzen für jede Isolierung ausgedehnt und jeweils drei Pflanzen dieser Reihen mit dem Virus der Erstinokulation zum zweiten Male abgerieben. Dieser Versuch wurde mit Virginia-Tabak, die übrigen beiden Versuchsreihen mit Virginia- und Samsun-Tabak durchgeführt. Die Ergebnisse waren in allen drei Fällen gleich. Während die bei der Abreibung des zweiten Termines neu inokulierten Pflanzen deutliche Primär- und Sekundärsymptome zeigten, konnte an keiner der doppelt infizierten die erneute Ausbildung von Symptomen hervorgerufen werden. Jede der drei Isolierungen muß deshalb die Pflanzen vor einer Neuinfektion durch eine der beiden anderen schützen, und die gegenseitige Prämunisierung muß vollständig sein. Die Ergebnisse der Prämunitätsteste bewiesen also, ebenso wie die übrigen Untersuchungen, daß die drei Isolierungen nahe verwandt, wenn nicht identisch sind.

6. Systematische Zugehörigkeit der Isolierungen

Die beschriebene Isolierung von *Sonchus arvensis* und die beiden anderen Varianten des gleichen Virus sind mit Sicherheit nicht identisch mit dem von KÖHLER (1952 a, 1953) von *S. arvensis* isolierten Virus. Sie unterscheiden sich von diesem bzw. dem Rattle- oder Stengelbunt-Virus deutlich.

Die Symptome auf Tabakarten gaben zuerst Anlaß zu der Vermutung, daß es sich bei den vorliegenden Isolierungen um Stämme des Virus der Tabakringfleckigkeit handeln könne. Es ist bis jetzt jedoch kein Stamm dieses Virus bekannt, der nur Lokalläsionen an *Phaseolus vulgaris* hervorrufen kann. Nur KÖHLER beschrieb 1940 drei Stämme eines Virus, das eine Gelbfleckigkeit an Kartoffellaub hervorruft. Eine seiner Isolierungen („Ede") verursachte nur Lokalläsionen an *Phaseolus vulgaris*. Die beschriebenen Symptome an Kartoffeln und verschiedenen anderen Wirten, die beigegebenen, diese Symptome verdeutlichenden Abbildungen und der Grenzpunkt der thermalen Inaktivierung stimmen überein mit den von mir für die hier beschriebenen Isolierungen beobachteten. KÖHLER bezeichnete seine Isolierungen als

milde Stämme des Tabakringspot und nannte das Virus *Solanumvirus pseudoaucuba* (Köhler und Klinkowski, 1954). Bercks und Gehring (1955) haben kürzlich eine Herkunft des Virus, die von Köhler ebenfalls aus gelbfleckigen Kartoffeln neu isoliert worden ist (briefliche Mitteilung von Bercks), durch Abreibung und Pfropfung auf Kartoffeln zurückübertragen und erhielten ähnliche Symptome wie sie das Bukettvirus der Kartoffel hervorruft, das ein Tabakringfleckigkeitsvirus ist (Köhler, 1950, 1952 b). Es ist möglich, daß Bercks und Gehring nicht das gleiche Virus vorlag; denn die Beobachtungen von Köhler führen m. E. eher zu der Schlußfolgerung, daß es sich bei seinen 1940 isolierten Stämmen um Isolierungen des Luzernemosaikvirus handelte.

Zwanzig verschiedene Viren können Lokalläsionen an *Phaseolus vulgaris* hervorrufen. Nach Durchsicht der Literatur konnten alle bis auf das Luzernemosaikvirus als mögliche Erreger der Krankheit an den drei Ausgangspflanzen ausgeschaltet werden. Die Zuordnung der hier beschriebenen Isolierungen basiert auf den Daten der thermalen Inaktivierung, dem Wirtspflanzenkreis, der für einzelne Wirte charakteristischen Symptomausprägung und der Zeit, die das Virus in vitro infektiös bleibt. Für dieses letztere Kriterium geben Pierce (1934) sieben bis neun Tage, Zaumeyer und Wade (1935) drei bis vier und Zaumeyer (1938) vier bis fünf Tage an. Die Ergebnisse meiner Beobachtungen würden in dieser Hinsicht also am besten mit denen von Pierce übereinstimmen. Er konnte jedoch *Medicago sativa, Melilotus alba* und *Trifolium pratense* infizieren, was in den vorliegenden Untersuchungen nicht gelang. Doch vermochten Kreitlow und Price (1949) ihren Ladino-Stamm, Porter (1935) seinen Calico-Stamm und Klinkowski (1956) seine Isolierungen des Virus nicht auf Luzerne zu übertragen. Kovachevsky (1942) konnte mit seinem *Capsicum*-Stamm Luzerne nur in geringen Prozentsätzen infizieren, und Houston und Oswald (1953) erwähnen für ihre auf *Phaseolus vulgaris* lokal reagierenden Stämme ebenfalls, daß sie nur mit Schwierigkeiten auf Luzerne übertragbar waren.

Eine Vielzahl von Stämmen ist seit den ersten Veröffentlichungen von Weimer (1931, 1934) beschrieben worden. Sie unterscheiden sich häufig nur durch die Unmöglichkeit der Infektion des einen oder anderen für den typischen Stamm bekannten Wirtes oder aber in der Symptomausprägung auf verschiedenen Wirten. Zwei große Gruppen können unterschieden werden: die Vertreter der einen verursachen in *Phaseolus vulgaris* eine systemische Infektion, wie die systemisch werdenden Isolierungen von McWhorter (1949), Thomas (1951 a, 1951 b, 1953), Houston und Oswald (1953), Zaumeyer (1953) und Klinkowski (1956). Die Vertreter der anderen Gruppe bringen, ebenfalls auf *Phaseolus*-Primärblätter aufgerieben, nur Lokalläsionen zur Ausbildung. Die hier vorliegenden Isolierungen wären in die letztere Gruppe einzuordnen. Nach einem Vergleich der wichtigsten für dieses Virus beschriebenen Stämme scheinen die Isolierungen am ähnlichsten zu sein dem *Marmor medicaginis* H. var. *capsici* Berkeley. Berkeley (1947) konnte ebenso wie ich Tomaten nicht infizieren, doch gelang ihm, wenn auch mit Schwierigkeiten, die Infektion von *Pisum sativum*, die für die hier angestellten Untersuchungen bezweifelt wird, und diejenige von *Trifolium pratense*.

Auch zu dem Alfalfa virus 1 von ZAUMEYER, das dem typischen Stamm entspricht, bestehen einige Ähnlichkeiten, doch konnte ZAUMEYER (1938) diesen Stamm nicht auf Gurken übertragen, was mit den drei vorliegenden Isolierungen verhältnismäßig leicht möglich war. Die physikalischen Eigenschaften stimmen gut überein mit dem von PIERCE (1934) beschriebenen typischen Stamm, doch verursachte dieser schwerere Symptome an *Vicia faba*.

Die größeren bzw. kleineren Differenzen zwischen den Angaben in der Literatur und den vorstehend zusammengestellten Ergebnissen machen eine endgültige Zuordnung zu dem einen oder anderen bereits beschriebenen Stamm schwierig. Eine eingehende Analyse ist in diesem Zusammenhang auch nicht von Bedeutung; andersgeartete Umweltbedingungen und Sortenunterschiede bei den verwendeten Testpflanzenarten machen kleinere Abweichungen der Ergebnisse und Beobachtungen erklärbar. Es dürfte sich bei den Isolierungen 28, 5 und 27 um Varianten des typischen Stammes des Luzernemosaikvirus *Marmor medicaginis* H. var. *typicum* Black et Price handeln, die eine gewisse Ähnlichkeit mit BERKELEYS var. *capsici* haben.

II. Das *Lamium*-Gelbmosaikvirus

1. Das Krankheitsbild bei *Lamium purpureum* L.

Im April 1952 untersuchte ich eine Taubnessel (Herkunft Aschersleben), deren Blätter unregelmäßig geformte Chlorosen aufwiesen. Die aufgehellten Partien waren unterschiedlich groß und hellgrün, zum Teil auch gelblichweiß gefärbt. Die Blätter selbst erschienen etwas verkleinert, jedoch nicht miß-

Abb. 19. *Lamium purpureum* L. (Freiland). Links: Blattrandchlorosen (die Blüten wurden vor der Aufnahme entfernt); rechts: ungeregelt verteilte Chlorosen; photographiert: 20. 6. 1955

gestaltet. Im Verlauf der weiteren Beobachtung eines in den Versuchsgarten umgepflanzten Teiles der Staude differenzierten sich die Symptome nach dem jeweiligen Alter der Blätter. An den Spitzenblättern waren nur einzelne Partien des Battrandes, häufig nur die äußersten Spitzen der Blattzähnelungen, gelb, und diese Zonen waren zumeist scharf gegen das normalgrüne Gewebe abgesetzt (Abb. 19, links). In der Mitte der Sproßachse inserierte Blätter wiesen einen gleichmäßig chlorotischen Rand von ungefähr 3 mm Breite auf, und erst an den älteren Blättern dehnten sich die chlorotischen Zonen bis zur Blattmitte aus. Sie ließen zunächst noch die Aderngewebe frei, nahmen dann aber auch diese ein. Die Randpartien der älteren Blätter zeigten im Juli—August einen so weitgehenden Abbau des Chlorophylls, daß sie fast weiß erschienen. Gegen die Mitte der Blattspreite zu gingen die Ausbleichungen dann ins Gelbliche über, und nur um die Blattansatzstellen herum waren die Gewebe noch normalgrün. Die Beobachtung dieser Pflanze mußte im Herbst 1952 abgebrochen werden.

In der Folge wurden auch in der Umgegend von Halle und später erneut in Aschersleben ähnliche Pflanzen häufiger gefunden. Zumeist war bei diesen jedoch eine Differenzierung der Symptomausprägung nach dem Alter der Blätter nicht vorhanden. So konnten die Blattrandchlorosen auf die mittleren und unteren Blätter beschränkt sein, Achseltriebe und jüngste Blätter dagegen eine leuchtende, unregelmäßige Gelbfleckung zeigen (Abb. 19, rechts). Es war bemerkenswert, daß kranke Pflanzen oft unmittelbar neben gesunden standen. Häufiger wurde eine infizierte Pflanze in einem größeren, sonst gesunden *Lamium*-Bestand gefunden.

Abb. 20. Triebspitze einer etwa ein Jahr vor der Aufnahme durch Pfropfung infizierten Pflanze (*Lamium purpureum* L.). Photographiert: 7. 8. 1955

Der andere Teil der von mir zuerst untersuchten Pflanze entwickelte nach längerem Aufenthalt im Gewächshaus ein allgemeines und gleichmäßiges, über alle Blätter gehendes, diffuses Gelb-Grün-Mosaik in mehreren Farbabstufungen (Abb. 20). In den meisten der im folgenden beschriebenen Versuche wurde diese Pflanze und von dieser infizierte junge *Lamium purpureum* als Ausgangspflanzen der Übertragung gewählt. Nach mehreren ergebnislos verlaufenen Versuchen in den Jahren 1952 und 1953, die Krankheit mechanisch auf eine Reihe von Testpflanzen zu übertragen, gelang im Sommer 1953 der Nachweis der

Virusnatur des krankmachenden Agens durch Pfropfung auf Pflanzen der gleichen Art.

2. Möglichkeiten der Übertragung

Das Virus konnte infolge der Übertragungsschwierigkeiten nur in einem sehr beschränkten Umfang bearbeitet werden. Die Versuche bezogen sich in der Hauptsache auf die Feststellung der Möglichkeiten, mit deren Hilfe eine Infektion erfolgreich herbeigeführt werden konnte, und auf die Feststellung des Wirtspflanzenkreises.

a) Pfropfung

Die Methodik der Pfropfübertragung war die gleiche wie bei den Baumwollpfropfungen. Es wurde hier jedoch ausschließlich die Methode der Keil- oder Spaltpfropfung angewandt. Die Blätter der Pfropfreiser wurden stark beschnitten oder bis auf die beiden jüngsten ganz entfernt, um ihre Transpirationsfläche zu verkleinern und dadurch ihr schnelles Abwelken zu verhindern.

Die Prozentsätze der gelungenen Verwachsungen von Pfropfreis und Unterlage lagen bei höchstens 20 bis 30 %, sie erniedrigten sich in den Wintermonaten. Im Winter bei relativ niedrigen Gewächshaustemperaturen, hoher Luftfeuchtigkeit und geringer Lichteinstrahlung faulten die Wundstellen gewöhnlich sehr schnell. Bei günstiger Verwachsung konnten, wenn kranke Sproßspitzen auf dekapitierte Stengel junger, gesunder *Lamium purpureum* gepfropft wurden, die Symptome schon nach zwölf Tagen erscheinen. Häufiger aber währte die Inkubationszeit vier bis fünf Wochen. Das erste Anzeichen einer Infektion war eine Adernaufhellung an den jüngeren Blättern einzelner Triebe. Die Interkostalfelder dieser Blätter wölbten sich nach oben und gaben ihnen dadurch ein stärker geripptes, manchmal auch ein gefaltetes Aussehen. Die Blätter an den Triebspitzen waren häufig fast löffelförmig gebogen. Eine Woche später, also drei Wochen nach Versuchsbeginn, waren die Symptome deutlicher ausgeprägt. Es erschienen an einzelnen Blättern zuerst hellgrüne, dann gelb werdende Flecke, die sich allmählich ausbreiteten. Nach vier Wochen etwa, unter günstigen Versuchsbedingungen, wiesen in den meisten Fällen alle Blätter der infizierten Pflanzen die gleichen Symptome auf wie das Pfropfreis.

Neben *Lamium purpureum* L. wurden noch weitere Labiaten und Vertreter anderer Familien durch Pfropfung zu infizieren versucht. Die Ergebnisse dieser Übertragungen gibt die Tabelle 7 an. Sie verliefen bis auf die Pfropfung mit *Lamium purpureum* negativ. In den meisten Fällen konnte keine Verwachsung erzielt werden. In der Regel kümmerten die Pfropfreiser sehr bald und starben ab. Bei den Pfropfungen auf Tabakarten hielten sie sich relativ frisch infolge einer guten Wundüberwallung von seiten des Tabaks. Sie wuchsen aber nicht weiter, und eine Gewebeverwachsung erfolgte

nicht. Die Tabakpflanzen zeigten etwa sieben bis zehn Tage nach dem Pfropfen einige Blattanomalien. Die Blätter waren verschmälert, im Umriß mißgeformt und etwas verbogen. Die neu zuwachsenden Blätter entwickelten sich normal. Die gleichen Erscheinungen zeigten die mit gesunden *Lamium*-Sprossen gepfropften Kontrollpflanzen.

Tabelle 7

Übertragung des *Lamium*-Gelbmosaikvirus durch Pfropfung
Pfropfreis: *Lamium purpureum*

Testpflanze	Verwachsung *	Infektion *	Dauer der Beobachtung ∅ in Tagen
Polemoniaceae			
Phlox drummondii Hook.	5/5**	0/5	65
Labiatae			
Origanum vulgare L.	0/16	0/16	67
Lycopus exaltatus L.	0/18	0/18	119
Lamium album L.	1/16	0/16	104
Lamium purpureum L.	22/142	18/142	68
Solanaceae			
Nicotiana glutinosa L.	2/2**	0/2	65
Nicotiana tabacum L., Sorte Samsun	3/3**	0/3	65
Compositae			
Callistephus chinensis (L.) Nees, Sorte Waldersee Mischung	0/43	0/43	64

* Der Nenner bezeichnet die Zahl der verwendeten, der Zähler die der angewachsenen bzw. infizierten Testpflanzen.

** Keine eigentliche Verwachsung, sondern Pfropfreis lebte bis Ende des Versuches.

Die Asternpfropfungen wurden siebenmal mit insgesamt 43 Pflanzen wiederholt. Die Versuche kamen in der Hauptsache in den Wintermonaten zur Durchführung, die Astern überlebten die Behandlung schlecht. Ein großer Teil der Blätter starb vorzeitig ab und zeigte starken *Botrytis cinerea*-Befall, an den verbleibenden konnte keine Abweichung von den Kontrollpflanzen festgestellt werden. Eine Verwachsung wurde in keinem Fall beobachtet.

Das Virus kann schon längere Zeit in der Pflanze vorhanden sein, bevor sie Anzeichen einer Infektion zeigt, wie eine Pfropfreihe auf *Lamium purpureum* L. auswies. In einem im August 1954 durchgeführten Test, bei dem von den gepfropften Pflanzen in wöchentlichem Abstand, beginnend drei Wochen nach der Propfung, je zwei Stecklinge hergestellt wurden, waren die Steck-

linge von sieben Pflanzen schon in der ersten Reihe infiziert. Es waren immer je ein Wurzelschößling und eine Triebspitze gewählt worden, um die Verteilung des Virus in der Pflanze verfolgen zu können. Die Stecklinge bewurzelten sich zum größten Teil gut und entwickelten die charakteristischen Symptome in der fünften bis siebenten Woche nach der Infektion, etwa zu der gleichen Zeit, in der die gepfropften Pflanzen selbst Anzeichen der Infektion zeigten. Drei Wochen nach der Pfropfung war das Virus demnach schon in den größten Teil oder in alle Triebe der Pflanzen eingewandert, und erst nach weiteren zwei bis vier Wochen zeigten die Blätter Anzeichen einer Infektion.

b) Mechanische Übertragung

Durch Preßsaftinokulationen konnten bei zweimaliger Wiederholung die bereits früher genannten Pflanzenarten des Testsortimentes nicht infiziert werden. Abwandlungen der mechanischen Übertragung, mit Hilfe derer das Virus auf kürzestem Wege in die Testpflanzen (*Lamium purpureum*) zu bringen versucht wurde, blieben ebenfalls ohne Erfolg. Zu diesem Zweck wurden Blätter infizierter Pflanzen auf Blätter der Testpflanzen aufgelegt und mit einer Insektennadel beide Blattlagen zwanzigmal durchstochen. Für die Kontrollpflanzen wurden gesunde Blätter verwendet. Die zweite Abwandlung bestand darin, daß mehrere mit dem Korkbohrer ausgestanzte Scheibchen von virushaltigem Blattgewebe mit der Pinzette zusammengefaßt und über die zu infizierenden Blätter geführt wurden (YARWOOD, 1953).

Nach WEHMER (1931) enthalten Labiaten vereinzelt Saponine und Gerbstoffe, für *Lamium album* L. gibt er Schleim, Gerbstoff und Saponin als Inhaltsstoffe an. HERRMANN (1953) fand kondensierte Gerbstoffe bei anderen Labiaten, z. B. *Melissa officinalis* L., *Salvia officinalis* L. und *Mentha piperita* L., und vermutet, daß diese Gerbstoffe auch schon im lebenden Blatt vorliegen. Aus den Arbeiten verschiedener Autoren ist bekannt, daß Gerbstoffe, aber auch Saponine hemmend auf eine Virusinfektion wirken können (LIMASSET, CORNUET und MARTIN, 1951; SILL und WALKER, 1952; GENDRON und KASSANIS, 1954; KÖHLER und KLINKOWSKI, 1954; MCKEEN, 1954; MARTIN, 1954; BARTELS, 1955).

In zwei Testreihen wurde die Frage der Hemmeigenschaften von *Lamium*-Preßsaft geprüft. In dem einen Fall wurde Preßsaft tabakmosaikinfizierter Pflanzen 1 : 100 mit einem 1 : 1 - Gemisch *Lamium* - Preßsaft — Wasser verdünnt und im Vergleich zu 1 : 100 mit Wasser verdünntem tabakmosaikvirushaltigem Saft auf 16 Blatthälften von vier *Nicotiana glutinosa*-Pflanzen aufgerieben. Der zweite Test wurde in der gleichen Weise (Verdünnung 1 : 10) durchgeführt.

In beiden Reihen zeigte sich eine deutliche Hemmung in der Ausbildung der Läsionen, wenngleich die Infektionen durch Beimischung von *Lamium*-Preßsaft keineswegs ganz unterdrückt wurden.

Verdünnung des TMV		Lokalläsionen
1: 100	*Lamium*-Preßsaft	8
1: 100	Wasser	109
1: 10	*Lamium*-Preßsaft	315
1: 10	Wasser	938

Die Hemmwirkung wurde als nicht stark genug angesehen, um damit das Mißlingen aller Preßsaftabreibungen zu erklären. Die verschiedenen bisher bekannten Hemmstoffe sollen auch weniger auf das Virus als auf den Wirt wirken, in den es eingebracht wird. Bei Übertragung auf den gleichen Wirt, aus dem der Preßsaft hergestellt wurde, tritt eine Hemmwirkung gewöhnlich nicht ein (VAN DER WANT, 1951; DIACHUN, 1952; GENDRON und KASSANIS, 1954). Bei Abreibung von *Lamium*-Preßsaft auf *Lamium* hätte deshalb eine Behinderung der Infektion nicht in Erscheinung treten können. Das Virus wurde deshalb als auf den Kreis der geprüften Pflanzenarten nicht mechanisch übertragbar angesehen.

c) Übertragung mit Hilfe von *Cuscuta campestris* Yunck.

Zu *Lamium purpureum, Phlox drummondii* und *Callistephus chinensis* wurde in mehreren Versuchen zu verschiedenen Terminen das Virus durch Seide zu übertragen versucht. Trotz der häufig länger als zehn Wochen währenden Beobachtung der Testpflanzen konnten keine Symptome oder Abweichungen gegenüber den mit gesunden Seidesprossen besetzten Kontrollen beobachtet werden.

d) Insektenübertragung

Mit *Coloradoa rufomaculata* Wilson und *Pyrethromyzus sanborni* Gill. wurden je einmal, mit *Doralis fabae* Scop., *Neomyzus circumflexus* Buckt. und *Myzus persicae* Sulz. zweimal die Übertragung des Virus auf gesunde *Lamium purpureum* versucht. Die Läuse starben gewöhnlich schon auf den infizierten Pflanzen, sonst in den ersten Tagen an den Testpflanzen. Von den genannten Aphiden konnte nur in einem Falle eine *Doralis fabae* bei einem kurzen Saugversuch beobachtet werden. Auch leicht angewelkte, abgeschnittene *Lamium*-Blätter wurden von keiner Läuseart, auch nicht nach 24stündigem Hungern, angenommen. Ein Freilandversuch in den Jahren 1954/55 zeigte jedoch, daß das Virus insektenübertragbar sein muß. Andere Insekten oder andere Blattlausarten sind u. U. für die Infektion im Freiland verantwortlich (Abb. 21). 1954 waren auf einer Fläche von ungefähr 19 qm im Gewächshaus angezogene, gesunde *Lamium purpureum* in flachen Halbkreisen um eine infizierte Freilandpflanze, die Blattrandchlorosen zeigte, ausgepflanzt worden. Bis zum Herbst 1954 waren an keiner der Pflanzen Symptome zu

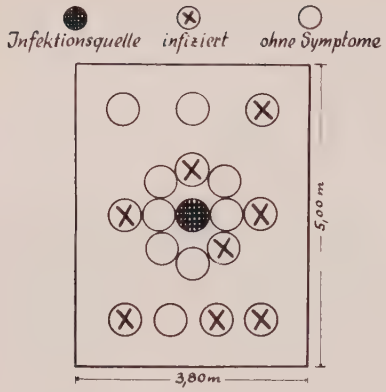


Abb. 21. Freilandpflanzung: *Lamium purpureum* L. Ausgepflanzt: 2. 8. 1954; bonitiert: 7. 7. 1955

bemerken. Auch am Neuaustrieb im Frühjahr 1955 konnten Symptome nicht beobachtet werden. Anfang Juli war jedoch ein Teil der ehemals gesunden Pflanzen infiziert und wies, zumeist an einem oder einigen Trieben, schmale Blattrandchlorosen auf.

e) Samenübertragung

Aus einer im April 1955 durchgeführten Aussaat von Samen infizierter Pflanzen liefen 125 Pflanzen auf, die normal ausgebildet waren.

3. Systematische Zugehörigkeit des Virus

Für alle von SMITH (1937) und HOLMES (1948) behandelten Viren ist *Lamium purpureum* als Wirtspflanze eines Virus nicht angeführt. KÖHLER und KLINKOWSKI (1954) geben *Lamium hybridum* als Wirt des Kartoffel-X-Virus an und *L. purpureum* als Wirt des Vergilbungsvirus der Aster. Das hochinfektiöse X-Virus hätte sich jedoch, gehörte auch *Lamium purpureum* zum Wirtspflanzenkreis des Virus, zu den inokulierten Solanaceen zumindest in einem gewissen Prozentsatz übertragen lassen müssen. Die Möglichkeit, daß es sich bei dem vorliegenden Virus um das der Asternvergilbung handelt, besteht schon eher, obwohl die durchgeführten Teste zu einer sicheren Aussage nicht ausreichen. In der Literatur konnte keine Beschreibung des Symptombildes, das dieses Virus auf *Lamium purpureum* hervorruft, gefunden werden. FRAZIER und SEVERIN (1945) beschreiben die Symptome an *Lamium amplexicaule* L. Sie entsprechen den für das Astern-Vergilbungsvirus auch an anderen Wirtspflanzen bekannten (KÖHLER und KLINKOWSKI, 1954). Die apikalen Teile des Stengels werden chlorotisch und gestaucht, und milde Chlorosen an den jungen Blättern treten auf. Die Blüten sind vergrünt, häufig mißgestaltet und stehen infolge der Stauchung in dichten Büscheln an der Spitze infizierter Sprosse.

Niemals traten an den von mir beobachteten Pflanzen irgendwelche Mißbildungen, bis auf eine geringfügige Blattverkleinerung, auf. Eine Wuchshemmung war gegenüber gesunden Pflanzen weder im Gewächshaus noch im Freiland bemerkbar, ebenso keine verstärkte Seitentriebbildung und keine anomal aufrechte Stellung der Triebe. Nach HOLMES (1948) ist ein wesentliches und charakteristisches Merkmal aller Viren der Gattung *Chlorogenus*, daß Blüten infizierter Pflanzen häufig steril sind. Bei allen beobachteten Pflanzen, deren Symptome in Schwere und Intensität alle Abstufungen

zeigten, konnten sterile oder abnorm gestaltete Blüten nicht festgestellt werden. Die Samenausbeute von gesunden und kranken Pflanzen war nahezu gleich, die Keimfähigkeit der Samen infizierter Pflanzen entsprach bei der Prüfung von je 400 Samen ungefähr der gesunder Pflanzen.

MacLeod (1954) berichtet von dem Auftreten eines dem Vergilbungsvirus der Aster sehr ähnlichen Virus, das keine Sterilität bei den angegriffenen Wirtspflanzen verursacht, das aber, anders als in meinen Versuchen, durch Stengelpfropfung leicht auf *Nicotiana tabacum* und *Datura stramonium* übertragen werden konnte.

Die von mir beobachtete Inkubationsperiode ist unter günstigen Bedingungen bei Pfropfung etwa gleich der, die Maramorosch (1953) für die Übertragung des Vergilbungsvirus der Aster durch *Macrosteles divisus* Uhl. angibt. Dieser Autor konnte erst einen Tag vor dem Erscheinen der Symptome das Virus aus dem infizierten Blatt wiedergewinnen. In dem von mir angeführten Beispiel war das Virus drei Wochen nach der Pfropfung offensichtlich in allen Teilen der Pflanzen vorhanden. Die Symptome erschienen jedoch nach dem Abtrennen von Stecklingen an diesen und den Pflanzen selbst erst nach weiteren zwei bis vier Wochen.

Die Einordnung des Virus muß infolge des Mangels an sicherem und ausreichendem Belegmaterial noch offen bleiben.

Zusammenfassung

Sonchus oleraceus L., *S. arvensis* L. und *Solanum nigrum* L. sind bisher nicht bekannte, natürliche Wirte des Luzernemosaikvirus. Die Symptome bestehen bei den *Sonchus*-Arten in gelben Bänderungen und Ringzeichnungen, bei *Solanum nigrum* in einer mehr oder weniger ausgedehnten Gelbfleckung. *Sonchus arvensis* hat als mehrjähriges Unkraut u. U. Bedeutung als Überwinterungswirt des Virus.

Von *Lamium purpureum* war ein leuchtendes Gelbmosaik nur durch Pfropfung auf Pflanzen der gleichen Art übertragbar. Ein Freilandversuch bestätigte die Vermutung der Insektenübertragbarkeit des Virus. Über seine Identität kann noch nichts ausgesagt werden.

Literaturverzeichnis

*Ajroldi, P., 1939: Il mosaico del peperone. Riv. pat. veg. **29**, 9—10 und 399—422.

Bartels, W., 1955: Der gegenwärtige Stand der Forschung auf dem Gebiet der Inaktivierung pflanzenpathogener Viren, insbesondere des Tabakmosaikvirus. Phytopath. Z. **24**, 117—178.

Bercks, R., und F. Gehring, 1955: Untersuchungen über die Bukettkrankheit der Kartoffel. Kartoffelbau **6**, 130—131.

BERKELEY, G. H., 1947: A strain of the alfalfa mosaic virus on pepper in Ontario. Phytopathology **37**, 781—789.

BHARGAVA, K. S., 1951: Some properties of four strains of cucumber mosaic virus. Ann. appl. biol. **38**, 377—388.

DIACHUN, S., 1952: Interaction between cucumber mosaic and *Phytolacca decandra*. Phytopathology **42**, 6—7.

DUGGAR, B. M., and J. K. ARMSTRONG, 1925: The effect of treating the virus of tobacco mosaic with juices of various plants. Ann. Missouri bot. garden **12**, 359—366.

FRAZIER, N. W., and H. H. P. SEVERIN, 1945: Weed-host range of California aster yellows. Hilgardia **16**, 621—650.

GENDRON, Y., and B. KASSANIS, 1954: The importance of the host species in determining the action of virus inhibitors. Ann. appl. biol. **41**, 183—188.

HANSON, E. W., and D. J. HAGEDORN, 1954: Effects of source and method of applying inoculum on virus infection in clovers. Phytopathology **44**, 491.

HEIN, A., 1956: Beiträge zur Kenntnis der Viruskrankheiten an Unkräutern I. Das *Malva*-Virus. Phytopath. Z. **28**, 205—234.

HENDERSON, R. G., 1931: Transmission of tobacco ring spot by seed of *Petunia*. Phytopathology **21**, 225—229.

HERRMANN, K., 1953: Über das Vorkommen von o-Phenolase in Labiatenblättern. Pharmazie **8**, 853—855.

HOLMES, F. O., 1948: The filterable viruses. Bergeys manual of determinative bacteriology. Suppl. No. 2, Baltimore, 6. Aufl., 1126—1286.

HOUSTON, B. R., and J. W. OSWALD, 1953: The mosaic virus disease complex of ladino clover. Phytopathology **43**, 271—276.

KLINKOWSKI, M., 1956: Chlorophylldefekte des Luzerneblattes, unter besonderer Berücksichtigung des Luzernemosaikvirus (*Marmor medica ginis* Holmes). Phytopath. Z. **26**, 377—400.

KÖHLER, E., 1940: Das Tabak-Ringspot-Virus als Erreger einer Gelbfleckigkeit des Kartoffellaubes. Angew. Bot. **22**, 385—399.

— —, 1950: Über das Vorkommen des Tabak-Ringfleckenvirus bei Kartoffeln. Nachr. Bl. dtsch. Pfl.schutzdienst (Braunschweig) **2**, 146—147.

— —, 1952 a: Über ein an *Sonchus arvensis* (Ackergänsedistel) angetroffenes Virus. Jber. Biol. Bundesanst. Braunschweig, 1951, 34.

— —, 1952 b: Die Bukettkrankheit, eine Viruskrankheit der Kartoffel. Phytopath. Z. **19**, 284—294.

— —, 1953: *Gomphrena globosa* als Wirtspflanze verschiedener Mosaikviren. Nachr. Bl. dtsch. Pfl.schutzdienst (Braunschweig) **5**, 21—22.

— —, und M. KLINKOWSKI, 1954: Viruskrankheiten, in SORAUER, P., Handb. Pflanzenkrankh. Parey, Berlin, 2. Bd., 6. Aufl.

KOVACHEVSKY, I. C., 1942: Die Buntblättrigkeit der Paprikapflanze (*Capsicum annuum*) (*Medicago* virus 2 K. Smith var. *typicum* Black u. Price). Z. Pflzkrankht. **52**, 533—540.

KREITLOW, K. W., and W. C. PRICE, 1949: A virus disease of ladino clover. Phytopathology **39**, 517—528.

LIMASSET, P., P. CORNUET et C. MARTIN, 1951: Le diagnostic serologique de la mosaique du *Dahlia*. Proc. conf. potato virus diseases, Wageningen-Lisse. 13.—17. Aug., 59—62.

*MACLEOD, D. J., 1954: Aster yellows (purple top) of potatoes. Amer. pot. j. **31**, 119—128.

Maramorosch, K., 1953: Incubation period of aster-yellows virus. Amer. j. bot. **40**, 797—809.

*Martin, C., 1954: Recherches sur les maladies à virus du *Dahlia* (avec quelques observations sur l'importance des phénomènes d'oxydation chez les plantes virosées). Ann. épiphyt. **5**, 63—78.

McKeen, C. D., 1954: Inhibition of virus infections of certain plants by extracts of *Capsicum frutescens* L. Science **120**, 229.

McWhorter, F. P., 1949: Alfalfa virus N. Phytopathology **39**, 861.

— —, 1954: The virus disease complex in canning peas. Plant dis. reptr. **38**, 453—457.

Oswald, J. W., 1950: A strain of the alfalfa-mosaic virus causing vine and tuber necrosis in potato. Phytopathology **40**, 973—991.

— —, A. Rozendaal and J. P. H. van der Want, 1954: The alfalfa mosaic virus in the Netherlands, its effect on potato and a comparison with the potato aucuba mosaic virus. Proc. second conf. potato virus diseases, Lisse-Wageningen, 25.—29. Juni, 137—147.

Pierce, W. H., 1934: Viroses of the bean. Phytopathology **24**, 87—115.

— —, 1937: Legume viruses in Idaho. Phytopathology **27**, 836—843.

Porter, D. R., 1935: Insect transmission, host range, and field spread of potato calico. Hilgardia **9**, 383—394.

Price, W. C., 1940: Comparative host range of six plant viruses. Am. j. bot. **27**, 530—541.

Ross, A. F., 1941: The concentration of alfalfa mosaic virus in tobacco plants at different periods of time after inoculation. Phytopathology **31**, 410—420.

— —, and W. M. Stanley, 1940: Properties and purification of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **30**, 20—21.

Schmelzer, K., 1956: Beiträge zur Kenntnis der Übertragbarkeit von Viren durch *Cuscuta*-Arten. Phytopath. Z. **28**, 1—56.

Sill, W. H., and J. C. Walker, 1952: A virus inhibitor in cucumber in relation to mosaic resistance. Phytopathology **42**, 349—352.

Smith, K. M., 1937: Textbook of plant virus diseases. J. und A. Churchill, Ltd. London.

Snyder, W. C., and S. Rich, 1942: Mosaic of celery caused by the virus of alfalfa mosaic. Phytopathology **32**, 537—539.

Swenson, K. G., 1952: Aphid transmission of a strain of alfalfa mosaic virus. Phytopathology **42**, 261—262.

Thomas, H. R., 1951 a: Yellow dot, a virus disease of bean. Phytopathology **41**, 967—974.

— —, 1951 b: A strain of alfalfa mosaic virus causing a systemic mottle in beans. Phytopathology **41**, 566.

*— —, 1953: Isolation of alfalfa mosaic virus strains from field grown beans. Plant dis. reptr. **37**, 390—391.

van der Want, J. P. H., 1951: Onderzoekingen over anjermozaiek, II. T. plantenziekt. **57**, 72—74.

Wehmer, C., 1931: Die Pflanzenstoffe. Gustav Fischer, Jena, 2. Aufl., Bd. 2, S. 1025.

Weimer, J. L., 1931: Alfalfa mosaic. Phytopathology **21**, 122—123.

— —, 1934: Studies on alfalfa mosaic. Phytopathology **24**, 239—247.

Weiss, F., 1945: Viruses described primarily on leguminous vegetable and forage crops. Plant dis. reptr. Suppl. **154**, 32—80.

YARWOOD, C. E., 1953: Quick virus inoculation by rubbing with fresh leaf discs. Plant dis. reptr. **37**, 501—502.

ZAUMEYER, W. J., 1938: A streak disease of peas and its relation to several strains of alfalfa mosaic virus. J. agr. res. **56**, 747—772.

— —, 1953: Alfalfa yellow mosaic virus systemically infectious to beans. Phytopathology **43**, 39—42.

— —, and B. L. WADE, 1933: Mosaic diseases affecting different legumes in relation to beans and peas. Phytopathology **23**, 562—564.

— —, and — —, 1935: The relationship of certain legume mosaics to bean. J. agr. res. **51**, 715—749.

Die mit * versehenen Literaturstellen wurden nur im Referat eingesehen.

Während der Drucklegung dieser Arbeit erschien

QUANTZ, L., 1956: Zum Nachweis des Luzernemosaikvirus in Deutschland und Italien. Phytopath. Z. **28**, 83—103.

Die Ergebnisse dieser Veröffentlichung konnten leider nicht mehr berücksichtigt werden.

Besprechungen

Handbuch der Pflanzenkrankheiten, begründet von Paul Sorauer. Bd. II: Die Virus- und bakteriellen Krankheiten. 6. Aufl., 2. Lfg.: C. Stapp: Bakterielle Krankheiten. Bakteriosen einschließlich Streptomykosen. Herausgegeben von O. Appel und H. Richter. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg 1956. VI, 575 S., 179 Abb., Ganzleinen 124.— DM.

Die von den Fachwissenschaftlern schon lange ersehnte Neubearbeitung der Bakteriosen in Sorauers „Handbuch der Pflanzenkrankheiten" liegt nun endlich vor. Damit ist schließlich doch noch eine Aufgabe bewältigt worden, die für einen einzelnen Bearbeiter fast schon zu groß geworden war. Denn an dem gewaltigen Aufschwung, den die gesamte Mikrobiologie seit 1928, dem Erscheinungsjahr der vorigen Auflage, genommen hat, ist die Bakteriologie mit dem praktisch wichtigen Zweig der pflanzenpathogenen Bakterien sehr wesentlich beteiligt. Inzwischen ist eine große Anzahl von Pflanzenbakteriosen zusätzlich bekannt geworden, und die Fülle der Veröffentlichungen auf diesem Gebiet naturwissenschaftlicher Forschung ist von einem einzelnen kaum noch zu überblicken. Deshalb war es auch nicht zu vermeiden, den Umfang dieser Lieferung auf etwa das Doppelte an Seitenzahl zu erhöhen, zumal es sich als notwendig herausgestellt hat, die Streptomykosen an die Bakteriosen anzuschließen und damit eine frühere Unschönheit in der Stoffordnung des Gesamtwerkes zu beseitigen. Bakteriosen und Streptomykosen füllen nunmehr einen eigenen Band des Handbuchs.

Aber selbst in diesem erweiterten Rahmen ließ sich bei weitem nicht alles unterbringen, was über pflanzenpathogene Bakterien und Strahlenpilze und über die von ihnen hervorgerufenen Krankheiten bisher veröffentlicht worden ist. Dem Verfasser, C. Stapp, in dessen bewährten Händen diese riesige und verantwortungsvolle Aufgabe abermals gelegen hat, ist es jedoch gelungen, ungefähr die gesamte Literatur zu verarbeiten und dann in weiser Beschränkung nur das zu erwähnen, was wichtig ist. Obwohl durch ein solches Vorgehen ganz allgemein leicht eine für ein Handbuch nicht tragbare subjektive Färbung entstehen kann, wird doch zugleich demjenigen, der das Buch als Werkzeug bei seiner Arbeit benutzen muß, die Handhabung erleichtert. Er braucht sich nicht erst durch die Masse weniger wichtiger Literatur hindurchzuarbeiten, um zum Wesentlichen vorzudringen. Diese Arbeit wurde ihm von Stapp in dankenswerter Weise abgenommen, und zwar ohne die Darstellung durch Betonung eigener Anschauungen in ihrem objektiven Wert zu mindern.

In ähnlicher Weise ist es zu begründen und positiv zu beurteilen, daß wirtschaftlich besonders schwer wiegende Krankheiten oder solche, die wissenschaftlich von allgemeinerer Bedeutung sind, ausführlicher behandelt wurden als solche, von denen das nicht gesagt werden kann. Das gilt z. B. von dem Kartoffelschorf als Streptomykose sowie einigen Bakteriosen der Kartoffel, des Mais, der Obstbäume und der Baumwolle und vor allem für den durch *Agrobacterium tumefaciens* hervorgerufenen Pflanzenkrebs. Während es in der fünften Auflage noch genügte, die Beschreibung dieser letzten Krankheit mit insgesamt etwa drei Seiten Literatur zu belegen, reichten jetzt hierfür kaum vierzehn Seiten aus. Der Pflanzenkrebs ist wohl diejenige Krankheit, die Stapp selbst von allen Bakteriosen am intensivsten experimentell untersucht hat und an der vor allem auch auf Grund der Untersuchungsergebnisse von Braun und Mitarbeitern Mediziner und andere Natur-

wissenschaftler über den Kreis der Phytopathologen hinaus sehr lebhaft interessiert sind. Es ist deshalb verständlich und zu begrüßen, daß diese Krankheit eine wesentlich breitere Darstellung, etwa 34 Seiten umfassend, erfahren hat als andere zur Zeit weniger bedeutungsvolle.

So lange es ein natürliches System der Bakterien nicht gibt — und das wird vermutlich noch lange dauern —, ist es auch nicht ratsam, die Bakteriosen nach einem künstlichen, sich leicht und oft ändernden System der Bakterien zu ordnen. Aus diesem Grunde hat sich die Beibehaltung des alten Einteilungsprinzips nach Familien der Wirtspflanzen noch nicht vermeiden lassen. Dieses Prinzip dürfte sich außerdem praktisch bewährt haben. Aber es ist doch vom wissenschaftlichen Standpunkt als ein gewisses Übel, wenn auch notwendiges Übel, zu betrachten, das trotz geschickter Ordnung des Stoffes kleinere Wiederholungen unvermeidbar macht. Auch wird das Charakteristische einer bakteriellen Infektionskrankheit im allgemeinen mehr von dem parasitischen Bakterium als von der Wirtspflanze bestimmt. Hiermit im Zusammenhang steht der im Leser aufkommende Verdacht, daß noch mehr der genannten pathogenen Bakterienarten identisch oder Varietäten einer einzigen Art sind, als vom Verfasser bereits erwähnt oder angedeutet wird. Hier müssen und werden weitere Forschungen die notwendige Klärung bringen, und es ist dankbar anzuerkennen, daß auf diese und andere Lücken in unserer Kenntnis pflanzenpathogener Bakterien hingewiesen wird.

Während in der fünften Auflage die durch Bakterien hervorgerufenen Krankheiten von kultivierten Arten aus 48 Pflanzenfamilien beschrieben wurden, sind es in dieser sechsten Auflage schon wesentlich mehr, die sich auf 67 Familien erstrecken. Darunter befinden sich nun auch zwei Pilzfamilien, die Pucciniaceen und die Agaricaceen. Stapp ist mit anderen Phytopathologen der Meinung, daß die Zahl der Bakteriosen unserer Kulturpflanzen tatsächlich stark zugenommen hat und auch weiterhin zunehmen wird, und gibt hierfür eine Begründung, über die man geteilter Meinung sein kann. In diesem Zusammenhang sei auf die eben erwähnte Fragwürdigkeit des Artbegriffs in der Bakteriologie hingewiesen.

Außer einer ausführlichen Symptomatologie jeder einzelnen Bakteriose, ihrem Wirtspflanzenkreis und Verbreitungsgebiet, wird eine vorteilhaft durch anderen Druck hervorgehobene, genaue Beschreibung des Erregers gegeben und werden die klimatischen und sonstigen Umweltfaktoren geschildert, die am Zustandekommen der Krankheit beteiligt sind, sowie geeignete Maßnahmen zur Krankheitsverhütung und -bekämpfung mitgeteilt. Dabei kommt die bekannte Tatsache zum Ausdruck, daß sich die meisten Bakteriosen besser verhüten als bekämpfen lassen. Auch die neuerdings erprobten Antibiotica befriedigen in dieser Hinsicht nur selten.

Die Beschreibung jeder wichtigen Krankheit ist mit gutem Bildmaterial ausreichend versehen, das dem größeren Umfang der neuen Auflage entsprechend von 85 auf 179 Abbildungen vermehrt wurde. Schließlich soll auch nicht unerwähnt bleiben, daß diese Lieferung mit einem eigenen ausführlichen Sachregister versehen ist.

Das Handbuch der pflanzlichen Bakteriosen und Streptomykosen ist in seiner Art einmalig. Es ist kein einfaches Bestimmungsbuch, wie es solche z. B. in der angelsächsischen Literatur bereits gibt, sondern ein Buch, das über alles Auskunft erteilt, was mit den entsprechenden Pflanzenkrankheiten im Zusammenhang steht. Also ist es zugleich ein Lehrbuch, und zwar für Wissenschaftler wie für Praktiker. Da es eine seit Jahren entstandene Lücke voll und ganz ausfüllt, wird es bei allen Phytopathologen und Mikrobiologen, Botanikern sowie Land- und Forstwirten des In- und Auslandes begeisterte Aufnahme finden.

Bortels, Berlin-Dahlem

Oehlkers, Friedrich, Das Leben der Gewächse. Ein Lehrbuch der Botanik. Erster Band. Die Pflanze als Individuum. VIII + 463 S., 523 Abb. Springer-Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1956. Geb. DM 39,60.

Legt man sich die Frage vor, ob die große Zahl der seit Kriegsende erschienenen Lehrbücher der Botanik für Hochschulen wertvoll ist, kann die Antwort nur darin gesucht werden, daß die Fülle des erarbeiteten Stoffes durch ihre Anordnung und Verarbei-

tung unter verschiedenen Aspekten den Studierenden immer neue Anregung geben kann. Die eigenwillige und originelle Gliederung und Durchführung des vorliegenden, in Druck und Abbildungen hervorragend ausgestatteten Werkes ist ein beredter Beweis hierfür. Der vom Verfasser selbst als schwierig bezeichnete Versuch, die Pflanze als Individuum und als Pflanze in der Welt darzustellen und trotzdem im ersten Band bereits den Zusammenhang von Struktur und Funktion lebendig werden zu lassen, ist ein Wagnis, regt den Leser aber außerordentlich an. Es mag freilich offen bleiben, ob der damit verbundene Verzicht auf eine immer konsequente und systematische Erklärung der Einzelerscheinungen dem Anfänger das Studium erleichtert, es sei denn, daß manche Kapitel in der Vorlesung sehr eingehend zusätzlich erklärt werden.

Der vorliegende erste Band des Lehrbuches zerfällt in drei Teile. Unter dem Titel „Die Gestalt der Gewächse in Entwicklung und Aufbau" sind Cytologie, Histologie und Organographie zusammengefaßt (Seite 3 bis 170). Es würde zu weit führen, auf die vielen wertvollen Hinweise über Zusammenhänge zwischen Organausbildung, Funktion und Entwicklungsgeschichte im einzelnen einzugehen. Sie bringen auch dem Phytopathologen vielseitige Anregungen. Allerdings scheint die Bezeichnung der Vermehrung des Virus-Eiweißes wie auch anderer Körperstoffe als Autokatalyse eine heute nicht mehr zu rechtfertigende Vereinfachung zu sein. Unverständlich erscheint dem Referenten, daß die Übersicht über die stofflichen Grundlagen der Zelle in dem Abschnitt „Die Einschlüsse" enthalten sind, da viele der genannten Stoffe ausschließlich im Plasma vorkommen. Daß einige auch praktisch bedeutungsvolle Mikronährstoffe in der Aufzählung fehlen und nur eine beschränkte Auswahl der „plastischen Stoffe und Baustoffe" gegeben werden kann, ist begreiflich. Die Auffassung, daß die offenbar unter „aplastischen Stoffen" mitgedachten sekundären Naturstoffe Abfallprodukte sind, die keine unmittelbare Bedeutung für die lebende Zelle haben, dürfte sich heute aber nicht mehr aufrechterhalten lassen.

Im zweiten Teil „Die Grenzen der Gewächse" sind „Anfang und Ende" dargestellt. Die in sich geschlossene, klare und klärende Darstellung von Fortpflanzung und Vererbung (Seite 171 bis 362) könnte uneingeschränkt als Meisterleistung bezeichnet werden, wenn nicht einige didaktische Bedenken gegen die Aufteilung der speziellen Darstellung der Fortpflanzung „der Gewächse mit kernhaltigen Zellen" nach ökologischen Gesichtspunkten angemeldet werden müßten. Für den Anfänger scheint dem Referenten die übliche Darstellung sinnvoller zu sein; dem Erfahrenen bietet die vorliegende Anordnung allerdings manche Bereicherung. Bei der Darstellung der Pilze ist zwar mit Recht auf den unklaren Gebrauch des Begriffes „Sporen" hingewiesen, aber durch willkürliche Begrenzung des Begriffes „Spore" auf Endo- (Sporangio-) Sporen eine ungewöhnliche Basis für die spätere Diskussion geschaffen (vgl. hierzu etwa HARDER, im Bonner Lehrbuch). Der Vorwurf der Inkonsequenz der Mykologie (Seite 266) ist daher unverständlich. Eine etwas ausführlichere Besprechung der Ascomyceten wäre erwünscht, ebenso der Hinweis auf die große Zahl pflanzenpathogener Fungi imperfecti. Die dem Phytopathologen vertrauten Beispiele für Phragmobasidiomyceten sind leider zum Teil unrichtig dargestellt. Die Biologie der nur örtlich gallenerzeugenden *Ustilago maydis* ist mit der systemisch wachsender *Ustilago*-Arten verquickt. Die Pyknosporen der Rostpilze (*Puccinia graminis* kann wohl kaum als Getreide-Rost schlechthin bezeichnet werden) werden nicht durch den Wind, sondern durch Insekten verbreitet und entstehen in Pyknidien gewöhnlich an der Blattoberseite. Ein Hinweis auf nicht wirtswechselnde Rostpilze erschiene der Vollständigkeit halber angebracht.

In dem Abschnitt „Alter, Krankheit und Tod" (Seite 362—395) ist nach Besprechung der Alterungsvorgänge den Krankheiten der Pflanzen ein erfreulich großer Raum eingeräumt worden. Wenn schon die Erörterung der Degenerationserscheinungen auf Seite 373 den Phytopathologen nicht vollständig befriedigen kann, so gilt dies in besonderem Maße für den seinem Arbeitsgebiet speziell gewidmeten Abschnitt. Die Definition der Krankheit als vorzeitig beschleunigtes Altern, welche die Einordnung an dieser Stelle rechtfertigen soll, fordert um so mehr zum Widerspruch heraus, als auf Seite 374 der Verf. selbst für die Scheidung der Phänomene der Krankheit und des Alters eintritt. Die Einfügung eines Abschnittes über „Analyse der Pflanzenkrankheiten" fällt in Anbetracht des Fehlens ähnlicher Abschnitte in anderen Kapiteln auf, die einseitige Darstellung „die wissenschaftliche

Bearbeitung der Phytopathologie geschieht terminologisch durchaus nach Analogie zur Humanmedizin, tatsächlich handelt es sich um nichts anderes als eine morphologische und physiologische Analyse eines speziellen Phänomens der Biologie usw." wirkt fast peinlich und wird dem Inhalt der phytopathologischen Forschung in keiner Weise gerecht; wozu der Hinweis auf die selbstverständliche Tatsache, daß die Pathologie der Pflanzen ebenso wie Morphologie und Physiologie usw. das Geschehen im Pflanzenreich deutend und erklärend zu erfassen sucht?

Daß den Erbkrankheiten ein verhältnismäßig großer Raum zugemessen ist, entspricht der Arbeitsrichtung des Verf. Die Behandlung des Zusammenhanges von mutationsbedingter Leistungsänderung und Umwelt, von Heterosis und Parthenogenesis in diesem Abschnitt dürfte bei den meisten Lesern Verwunderung auslösen und wohl kaum gebilligt werden. Bei der Behandlung der Mangelkrankheiten wäre es wohl richtiger, weniger auf die Unterschiede zwischen Wirkstoffmangel bei Tier und Pflanze hinzuweisen als auf die Zusammenhänge, welche sich aus der Bedeutung der Mikronährstoffe als Cofermentbestandteile ergeben. Eisenmangelchlorose ist leider viel häufiger als der Verf. meint.

Die hier offenbar nur fragmentarische Darstellung von Symbiose und Parasitie vereinfacht die Zusammenhänge leider allzusehr durch eine den Tatsachen nur teilweise gerecht werdende Definition von Eu- und Dyssymbiose. Die Feststellung, daß reaktiver Verlauf von Infektionskrankheiten keinen prinzipiellen Unterschied gegenüber dem Vorgang des Alterns zeigt, tut den Tatsachen zur Aufrechterhaltung eines willkürlich gesetzten Zusammenhanges Zwang an. Ähnliches gilt für die Ausklammerung der Nematoden und gallenerzeugenden Organismen als Krankheiterreger, für welche ebensowenig ein sachlicher Grund aufzuzeigen ist, als sich gerade hier Fälle finden, welche der einseitigen Definition des Krankheitsbegriffes des Verf. besonders nahekommen. Auch die folgenden Absätze zeugen davon, daß der Verf. sehr wenig inneren Kontakt mit pflanzenpathologischen Problemen hat. Dies geht auch daraus hervor, daß im Literaturverzeichnis kein pflanzenpathologisches Werk genannt ist, nicht einmal die Infektionslehre von GÄUMANN, aus welcher Bilder und Angaben übernommen sind. In den angeführten Beispielen finden sich mehrere falsche Darstellungen, z. B.: *Synchytrium endobioticum* befällt nie die Wurzel, sondern nur die unterirdischen und bodennahen Sproßteile der Kartoffel, insbesondere die Knospen der Sproßknollen. So erfreulich die Erwähnung der Resistenzzüchtung ist, treffen die hier für den Kartoffelkrebs gemachten Aussagen nicht zu, da krebsresistente Kartoffeln aus Kultursorten ausgelesen sind und kein Beispiel für die Notwendigkeit der Einkreuzung von Wildformen darstellen. Auch die Unterscheidung von „einfachen Infektionskrankheiten", welche durch „direkte Desinfektion der infizierbaren Oberflächen durch Chemikalien" bekämpft werden können, und „komplizierteren Infektionsgeschehnissen", nämlich „den Rostkrankheiten" zeigt, wie fremd dem Verf. Pflanzenschutzprobleme sind; denn letztlich sind es ja nur wirtschaftliche Gründe, welche die chemische Bekämpfung vieler Rostkrankheiten unmöglich machen. Das Übersehen der nicht wirtswechselnden Rostpilze sowie der zwischenwirtfreien Überwinterung führt zu einer falschen Darstellung der Bekämpfungsmöglichkeiten der Roste, ganz zu schweigen von den völlig unhaltbaren Erörterungen über die Selektion rostresistenter Rassen in Epidemiegebieten. Wenn schließlich in dem Kapitel über den Tod gesagt wird, daß man unterscheiden muß „zwischen dem Tod im Zuge der Differenzierung und dem Tod als Folgeerscheinung pathologischer Vorgänge", kann man doch die Frage aufwerfen, ob es für den Studierenden richtiger ist, eine irreführende Darstellung der Pflanzenpathologie in einem Lehrbuch der Botanik zu finden, oder die Unterweisung in diesem Teilgebiet der Botanik dem anerkannten Fachmann zu überlassen.

Im dritten Teil des Buches werden die Ursachen der Entwicklung (Entwicklungsphysiologie, Seite 396—440) verhältnismäßig kurz behandelt. Dieser Abschnitt bildet, da sich entwicklungsphysiologische Fragen am wenigsten von der Umwelt losgelöst betrachten lassen, einen sinnvollen Übergang zum zweiten Band. Die knappe Darstellung ist in den ersten Abschnitten weitgehend den Lehrbüchern von BÜNNING und KÜHN angepaßt. Die abschließenden Abschnitte über die Geschlechtsbestimmung und Bedingungen der Kopulation und Meiosis verbinden in klarer Darstellung die Entwicklungsphysiologie mit den früheren Kapiteln über Fortpflanzung und Vererbung.

FUCHS, Göttingen

Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft / Berlin - Dahlem

Herausgegeben

von der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem

Heft 79 **Die Vergilbungskrankheit der Rübe**
Zusammenfassender Bericht über die in den Jahren 1947 bis 1952 in Westdeutschland durchgeführten Untersuchungen zur Epidemiologie, Verbreitung, wirtschaftlichen Bedeutung und Bekämpfung der Virose.
Von Dr. W. STEUDEL und Dr. A. HELLING
1954. 132 S. mit 26 Abb. und 55 Tab., kart. DM 11,—

Heft 80 **29. Pflanzenschutz-Tagung**
der Biologischen Bundesanstalt in Heidelberg, 5. bis 9. Oktober 1953.
1954. 178 S. m. 30 Abb. und 8 Tabellen, kart. DM 17,—

Heft 81 **Pflanzliche Virusforschung**
Vorträge, gehalten anläßlich der Einweihung des neu errichteten Dienstgebäudes der Abteilung für pflanzliche Virusforschung der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig, am 23. Februar 1954.
1954. 51 S. m. 13 Abb., kart. DM 6,—

Heft 82 **Geometrische Figuren und ihre Anwendbarkeit**
auf Düsen-Flüssigkeitsstrahlen bei mehrdüsigen Pflanzenschutzgeräten zwecks Wahl des richtigen Düsenabstandes zur Erzielung bestmöglicher Flüssigkeitsverteilung.
Von Dr. H. KOCH
1955. 38 S. m. 35 Abb. und einem Anhang mit 9 Tabellen, kart. DM 9,—

Heft 83 **30. Pflanzenschutz-Tagung**
der Biologischen Bundesanstalt in Bad Neuenahr, 11. bis 16. Oktober 1954.
1955. 175 S. m. 34 Abb., kart. DM 17,—

Heft 84 **Deutsche Namen von Schadinsekten**
Von Dr. G. SCHMIDT
1955. 174 S., kart. DM 14,50

Heft 85 **31. Pflanzenschutz-Tagung**
der Biologischen Bundesanstalt in Kassel, 10. bis 14. Oktober 1955.
1956. 204 S. m. 46 Abb. und 2 Tafeln, kart. DM 21,—

Heft 86 **Holzschutz**
Holzschutz Hann. Münden.
1956. 63 S. m. 15 Abb. und 26 Tabellen, kart. DM 9,80

Die Schriftenreihe wird fortgesetzt
Über weitere Hefte der „Mitteilungen" erteilen wir auf Anfrage gern Auskunft.

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Biochemie der Spurenelemente

Von Dr. KARL SCHARRER

o. Professor und Direktor des Agrikulturchemischen Instituts
der Justus Liebig-Hochschule Gießen

Dritte, vollständig neubearbeitete Auflage

1955. 412 Seiten und 8 farbige Tafeln. Ganzleinen DM 39,60

Das für dieses Gebiet der physiologischen Chemie grundlegende deutschsprachige Standardwerk vermittelt eine dem heutigen Stand der Wissenschaft entsprechende Kenntnis der Spurenelemente und ermöglicht so einen tieferen Einblick in das biochemische und biologische Geschehen.

Die Darstellung umfaßt alle bisher als wichtig für das Gedeihen von Pflanze, Mensch und Tier erkannten Mikronährstoffe in ihrer Wirkung und Bedeutung für die Organismen und darüber hinaus auch andere Spurenelemente, deren Lebensnotwendigkeit noch nicht erwiesen ist. Die vom Organismus, wenn auch nur in äußerst geringen Mengen, als Mikronährstoffe benötigten Elemente, sind für den Ablauf der Lebensvorgänge ausschlaggebend. Ihr Fehlen führt nicht nur zu Ernährungsstörungen, sondern zu schweren Mangelkrankheiten bei Tier und Pflanze.

Das Literaturverzeichnis ist dem Charakter des Werkes entsprechend sehr reichhaltig. Erstmalig in deutscher Sprache wurde das weit verstreute in- und ausländische Schrifttum zusammengefaßt und nach Elementen geordnet in mehr als 2600 Literaturzitaten aufgeführt.

„Es ist dem auf diesem Gebiet führenden Forscher meisterhaft gelungen, auch dem nicht spezialisierten Leser ein umfassendes Bild von der neuesten Entwicklung der Pflanzenernährungslehre zu vermitteln." Landwirtschaftliche Forschung

„Besonders zu begrüßen ist die gegenüber den früheren Auflagen des Buches erfolgte Erweiterung durch Farbtafeln, welche die Symptome des Mangels an den wichtigsten Spurenelementen anschaulich darstellen." Chemiker-Zeitung

„Das Buch ist für jeden Pflanzenphysiologen und -pathologen als unentbehrlich zu betrachten." Zeitschrift für Pflanzenbau und Pflanzenschutz

„Für den Pflanzenschutz hat das Buch unschätzbare Werte, da nach dem heutigen Wissen viele Krankheiten unserer Kulturpflanzen auf Mangelerscheinungen zurückzuführen sind."
Min.-Rat Dr. DREES in „Gesunde Pflanze"

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

Verlag: Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44-47, Tel.: 61 44 68/69. Herausgeber: H. Kappert, Berlin-Dahlem; W. Rudorf, Köln-Vogelsang; H. Stubbe, Gatersleben. — Printed in Germany. — Druck: A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36. — Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6—8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).

— Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.